COMMONWEALTH BUREAU OF HELMINTHOLOGY,
THE WHITE HOUSE,
160, ST. PETER'S STREET,
ST. ALBANS, HERTS.
3.9.62.

千葉大学園芸学部学術報告

第 9 号

The Technical Bulletin of Faculty of Horticulture
Chiba University

No. 9

昭和 36 年 12 月
December, 1961

千葉大学園芸学部
Faculty of Horticulture, Chiba University
Matsudo, Chiba-ken, Japan.

千葉大学園芸学部学術報告

第 9 号

The Technical Bulletin of Faculty of Horticulture
Chiba University

No. 9 (1961)

千葉大学園芸学部学術報告

第 9 号 (1961)

目　　次

総合農学科

ラット卵子の第2極体形成後の受精と発育について……石橋　功 (1)

同馬力の単相と三相の農事用電動機の比較試験……児玉　義彦 峰岸　茂 (59)

園芸学科

メチルジメトンの樹幹処理に関する二三の考察……野村　健一 (67)

ナシ・リンゴ花内の遊離アミノ酸について……大野　正夫 高橋　英吉 中井　滋郎 河野　喜幸 (75)

農芸化学科

ポリ燐酸塩によるビタミンCの安定性について……綾野　雄幸 (83)

植物材料よりの β-インドール酢酸の検出および定量に関する研究……柴沼　忠三 石井　弘 間瀬　哲也 (89)

蛋白質の消化に関する研究（第3報メラニンの枯草菌プロテアーゼ阻害について）……信濃　栄 田村　五郎 (95)

ポリ燐酸塩がブドウ果汁の発酵に及ぼす影響について……高野　一郎 矢吹　稔 (103)

トマトの色調について……竹花秀太郎 小倉　長雄 島村　誠一 (111)

酵母懸濁液によるローダミンBの吸着に関する研究……矢吹　稔 (119)

造園学科

日本における造園樹木の天然分布——特にその分布型について（第7報）……飯島　亮 (127)

総合農学科

ラット卵子の第2極体形成後の受精と発育について

石　橋　　功

（畜産学研究室）

Isao Ishibash : Fertilization and Development of the Rat Ovum after the Second Polar Body Formation

目　　次

Ⅰ．緒　　言……2
Ⅱ．研究材料並びに方法……3
Ⅲ．第2極体形成の機構……4
A．第2極体の形成……4
イ　in vitro における第2極体の形成……4
ロ　in vivo における第2極体の形成……5
B．卵令からみた第2極体形成能……8
C．極体の分類と運命……9
D．第2極体形成後の卵子の分割……10
イ　組織学的変化……10
ロ　分　　割……11
E．考　　察……12
F．小　　括……17
Ⅳ．第2極体形成後の受精と発育……18
A．第2極体形成後の受精……18
イ　受　　精……18
ロ　前核形成……23
B．受精後の卵子の分割……25
C．胎児の発育と出産……28
イ　発　　育……28
ロ　出　　産……28

D. 考　　察……31
E. 小　　括……38
V. 論　　議……40
VI. 総　　括……42
VII. 引用文献……44
VIII. 附　　図……53

I. 緒　　言

家畜の増殖改良は雌雄双方の能力向上によって図られることは言を俟たないが，その基礎的探究は生殖細胞たる精子及び卵子の生理学的特質の把握をもって第1歩と考えられる．かかる意味における精子の研究は家畜人工授精法の改良工夫と相俟って，近年目ざましい進歩を遂げたのであるが，精子のそれに比すれば卵子の研究は未だしの感が深い．その原因が奈辺に存するかは別として，生殖細胞としての卵子を追究することは，受精生理の解明，さらに卵子の移植等将来の応用部面への発展のために不可欠のことである．

1930年偶然にも期を一にして公刊された山根[91]，及びPINCUS[69]の受精前後における家兎卵子に関する研究に端を発して，以後の10年間は家兎を実験動物として幾多の知見が明らかにされ，1939年PINCUS[71~72]によって単為生殖家兎の作出へと発展して，この面に一紀元を画した．さらに家兎の未受精卵子は，各種の処置により第2極体を抑制して倍数体を形成し，種々の程度に発育することが明らかにされ[34~35,71~72,75~76,82,84,86~88]，単為生殖に対する理論的基礎も与えられるに至ったのである．以後家兎卵子の研究は主としてCHANG[30~34]により，その他の動物については，卵子活性化の面から，或いは受精との関連において，AUSTIN及びBRADEN[1~11,13~19,26~29]の単独及び協力により，或いはODORとBLANDAU[23~25,63~67]の協力によって追究され，主として1948年以後今日に至るまでに幾多の知見が明らかにされている．

哺乳動物卵子の第2極体の形成は，精子侵入後に行なわれ，これがために家兎及びラットでは45分～1時間を要し，またこの時期は精子頭部が卵原形質内に入り，膨大変化する時である[4~5,15,24,66,73,91,95]．故に第2極体の形成には精子の存在を必要とし[91~95]，自然に第2極体を形成する卵子は，ハムスターの場合[7]以外は稀れである[16,45,61,91,95]．

しかしながら，人工的に各種の処置を行なえば，種々の程度に第2極体を形成せしめ得ることが家兎[51,70,74,91~92,94~95]，ラット[16,85,87]，及びマウス[28]等で報告されている．また第2極体形成後の卵子の染色体は凝縮しているが，間もなく分散することが明らかにされ[7,16,18,28,35]，時に1個の大きい核の形成や不確実な単為生殖的発育の例[18,20]も報告されている．そして人工的処置による第2極体の形成は，初期の単為生殖的発育とみなされ，各種の処置が卵子の分割の現象に対して好影響を与えるものと考えられて[7,18,20,28,35]，家兎の場合同様卵子活性化の想定の下に実験が行なわれてきたのである．

さらに，かかる人工的に第2極体を形成した卵子は，受精し得ないであろうとTHIBAULT[87]は推測したが，その後AUSTIN & BRADEN[16]によって受精し得ると考えられるに至った．しかしながら，その証明の方法において不充分であり，況んやその裏付けとなる理論的解明やその後の発育については，明確な証明を

与えることは出来なかったのである．

筆者はさきに，ラットの未受精卵子が普遍的に分割する事実，ならびにその機構を明らかにしたが[45～46]，さらにラット卵子は比較的容易に第2極体を形成するらしいことに気付き，従来の見解に対して若干の疑義を有するに至った．よって人工的に各種の処置を行なって第2極体を形成せしめて，その機構を明らかにし，その後の卵子の分割の問題を追究して卵子活性化，人工的単為発生の可能性について検討した．さらにラット卵子の第2極体形成後の受精と発育についても追究し，受精における第2極体形成の意義について考察を加え，受精現象に対して一つの推測的見解を有するに至ったので，これをまとめ諸賢の御批判の資としたいと念願する次第である．

なお，本研究の遂行に当って，終始懇切な指導と助言を賜った加藤浩教授，並びに指導と検討を賜いた東京大学農学部星冬四郎教授，西田司一教授に対し，謹んで感謝の意を表する．

Ⅱ. 研究材料並びに方法

イ 動物

生後3カ月以上を経過した体重150g以上のWistar系ラットを，人工昼夜の条件下（午前0時より10時までを暗く，午前10時より0時までを明るくする）に飼育して，正常4日の性周期を示したラットの計973匹を使用した．そのうち直接個体の実験に用いたものは334匹であり，卵子の観察は639匹のラットから得た6,278個について行なった．

人工昼夜の条件下のラットの排卵は，暗黒開始後6～8時間[68]或いは6～10時間[15]に行なわれるので，本研究における排卵後の取扱いは暗黒開始後8時間（午前8時）を基準とし，さらに実験時，卵巣の黄体の有無，卵管の著るしい膨脹，及び子宮分泌液の有無等を観察して排卵を確認し，稀れに存在した未排卵の疑いのあるものはこれを除外した．

動物の屠殺はすべて打撲法により，卵子の採取は解剖顕微鏡下で卵管をガラス片によってさき，或いは子宮を灌流して行なった．

ロ 手術と処置

手術は主として5～10分の軽いエーテル麻酔下で行ない，各種の処置は両腰部を開いて卵管をとり出し，これに直接行なうか，或いは腹部を開いて子宮角末端を結紮した後各種溶液を注入した．また必要に応じてはエーテルの深麻酔（18～20分），ラボナール（T社製：体重100g当り4～6 mg）の皮下注射または無麻酔による手術も行なった．

ハ 卵子の体外における保存

採取した卵子は内径5 mm，長さ3 cm位のガラス管の中の各種溶液中に入れて，37℃に保存した．ガラス管の両端は融点58～60℃のパラフィンで閉じた．

ニ 観察

1. 位相差法

時計皿の中に少量の生理的食塩水をとり，その中に1個または数個の卵子を入れて位相差顕微鏡（Negative対物レンズ）によって観察した．さらに必要に応じてはスライド法にもよった．すなわち，きれいなスライド上に極く少量の食塩水をとり，その中に卵子を入れて，ワゼリンによってカバーグラスの圧を加減しつつ静かに被覆すれば，高倍率の卵子の観察も可能である．なお，卵胞細胞群の付着しているものにあっ

ては，予めスプラーゼ液の少量を加えて全裸にした後供用した．以上によって細胞学的観察も同時に行ない得るがさらに微細な観察は次の方法によった．

2．切片法

卵管をブーアン固定，パラフィン包埋により，10～15μの切片とし，ハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色を行なった．

3．スライド染色法

卵子をスライドグラスとカバーグラスの間におき，CHANG[32]，AUSTIN[7]の用いた方法を若干改変して利用した．すなわち，10%酢酸アルコールで5～10分間固定し，次いで0.2～0.3%のトルイジンブルー液（45%酢酸でとかす）で15～20分間染色し，後速やかに10%酢酸アルコールで洗い，最後に食塩水を入れる．

操作はすべて解剖顕微鏡下で行ない，液の移動は，ピペットでカバーグラスの一辺に液を滴下しつつ，反対側から沪紙で吸引するのである．

Ⅲ．第2極体形成の機構

A．第2極体の形成

イ　in vitro における第2極体の形成

各種溶液中にラット卵子を入れて，37℃に保存した結果を，保存開始後の種々な時間別にこれを示せば第1表の通りである．

すなわち，in vitro において，タイロード液，リンガー液，ラット血清，2,000～4,000V.U.M. スプラー

TABLE 1. Induction of second polar body in rat ova incubated at 37℃

Solution used for incubation	No. examined		No. of ova with induced second polar body observed at various intervals after beginning of incubation*						
			Induced rarely	Induced abundantly					
	Rats	Ova	3/4 hr.	1 hr.	1 1/4 hrs.	1 1/2～5 hrs.	Total		
							No. of rats	No. of ova	%
Tyrode	13	115	2/21	33/42	18/21	26/31	10/11	77/94	81.9
Ringer	9	83	0/17	17/20	9/11	27/35	7/7	53/66	80.3
Serum	10	98	1/19	24/31	17/22	21/26	8/8	64/79	81.0
Sprase, 2,000 V.U.M.	10	72	0/22	13/23	.	19/27	6/7	32/50	64.0
Sprase, 4,000 V.U.M.	9	50	.	.	.	29/50	9/9	29/50	58.0
Sperm extract	8	43	.	.	.	34/43	8/8	34/43	79.1
Uterine fluid	3	24	.	.	.	0/24	3/3	0/24	0
Total	62	485	.	.	.	.	.	.	.

Remarks. * No. of rats or ova with induced second polar body/No. of rats or ova examined.

ゼ液，及び精子浮遊液等で保存するとき，第2極体の形成がみられ，しかも前4者ではそれに要する時間は1時間であることも知り得る．第2極体を形成した卵子の比率は，タイロード液，リンガー液，ラット血清，精子浮遊液では殆んど同率に80%内外の卵子に，2,000V.U.M. スプラーゼ液ではやや低く64%に，4,000V.U.M.スプラーゼ液はさらに僅か低く58%であった．子宮分泌液では卵子に若干の溶解がみられて第2極体は形成されず，5%ブドウ糖液0.85% 食塩水ではいずれも卵子が溶解されて実験出来なかった．

なお，2,000—，4,000V.U.M. スプラーゼ液，及び精子浮遊液の場合は卵胞細胞群の分散や粘稠度の低下がみられたが，その他の溶液の場合は卵胞細胞群に殆んど変化がなかった．

ロ in vivo における第2極体の形成

1. エーテル，ラボナール及び冷刺戟の影響

エーテル，ラボナール及び冷刺戟(氷片)の第2極体形成に及ぼす影響を検し，第2表の如き成績を得た．

すなわち，エーテルの5～10分間の吸入麻酔だけを行なったもの（いわゆる'無処置'のもの）では第2極体を形成する卵子は僅か3.1%（64個のうち2個）であったが，開腹手術により卵管へ直接エーテル処置を与えたものでは，1時間以後に96.5%（57個のうち55個）の卵子に第2極体の形成をみている．さらに18～20分間の深いエーテル麻酔を行なっても，5～10分の浅麻酔の場合よりもいくらか多く影響を与える

TABLE 2. Influence of anesthesia or cold shock (ice) treatment on induction of second polar body in rat ova

Anesthesia employed at operation	Treatment	No. examined		No. of ova with induced second polar body observed at various intervals after anesthesia or cold shock treatment*								
				Induced rarely	Induced abundantly					Total		
		Rats	Ova	$\frac{3}{4}$ hr.	1 hr.	1 $\frac{1}{4}$—1 $\frac{1}{2}$ hrs.	1 $\frac{1}{2}$—2 hrs.	2 $\frac{1}{2}$—4 hrs.	4 $\frac{1}{2}$—6 $\frac{1}{2}$ hrs.	No. of rats	No. of ova	%
Ether inhalation, 5～10 mins.	None	7	64	·	·	·	·	$\frac{0}{17}$	$\frac{2}{47}$	$\frac{7}{7}$	$\frac{2}{64}$	3.1
	Oviducts : ether, $\frac{1}{4}$ min.	6	57	·	$\frac{8}{8}$	·	·	$\frac{27}{29}$	$\frac{20}{20}$	$\frac{6}{6}$	$\frac{55}{57}$	96.5
Ether inhasation, 18～20 mins	None	12	115	·	·	·	·	$\frac{5}{39}$	$\frac{11}{76}$	$\frac{12}{12}$	$\frac{16}{115}$	13.9
	Left oviduct : no treatment	14	67	$\frac{0}{11}$	$\frac{4}{14}$	$\frac{10}{10}$	$\frac{9}{9}$	$\frac{8}{10}$	$\frac{10}{13}$	$\frac{10}{11}$	$\frac{37}{42}$	88.1
	Right oviduct: ether, $\frac{1}{4}$ min.		71	$\frac{0}{9}$	$\frac{15}{17}$	$\frac{12}{12}$	$\frac{12}{13}$	$\frac{10}{11}$	$\frac{9}{9}$		$\frac{59}{62}$	95.1
1% ravonal subcutaneously injected	None	4	37	·	·	·	·	·	$\frac{1}{37}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{1}{37}$	2.7
	Oviducts : 1% ravonal, $\frac{1}{4}$ min,	5	48	·	$\frac{27}{29}$	$\frac{18}{19}$	·	·	·	$\frac{5}{5}$	$\frac{45}{48}$	93.8
Ether inhalation, 5～10 mins.	Oviducts : ice, 1～1 $\frac{1}{2}$ mins.	14	136	$\frac{1}{32}$	$\frac{29}{34}$	$\frac{22}{23}$	$\frac{29}{30}$	$\frac{9}{9}$	$\frac{7}{8}$	$\frac{10}{11}$	$\frac{100}{104}$	96.2
1%ravonal subcutaneously injected	Same as above	6	57	·	$\frac{20}{22}$	·	·	$\frac{17}{18}$	$\frac{16}{17}$	$\frac{6}{6}$	$\frac{53}{57}$	93.0
Total		68	652	·	·	·	·	·	·	·	·	·

Remarks. * No. of rats or ova with induced second polar body/No. of rats or ova examined

ようであるが，なお $2^1/_2$ 時間以後に観察したもので 13.9% (115 個のうち 16 個) の卵子が第 2 極体を形成するにすぎない．しかるに，同一個体で左側は無処置とし，右卵管にのみ直接エーテル処置を行なうと，右側は 1 時間以後において殆んどの卵子 (62 個中 59 個：95.1%) に第 2 極体の形成をみているばかりでなく，左側においても 1 時間後に 14 個中 4 個，$1^1/_4$ 時間以後に 42 個中 37 個(88.1%)の卵子に第 2 極体の形成をみている，すなわち，この場合僅かの遅滞をもって無処置の左側にも影響を与えていることがわかる．ラボナールの場合も同様であって，皮下注射による麻酔のみでは僅か 2.7% (37 個のうち 1 個) に第 2 極体の形成をみているにすぎないが，開腹して 1% ラボナール液を直接卵管に処置すると，処置後 1 時間以後に殆んどの卵子 (48 個のうち 45個：93.8%) に第 2 極体の形成をみている．冷刺戟 (氷片を直接卵管へ 1～$1^1/_2$分間適用) の場合は，5～10 分の軽いエーテル麻酔，及びラボナールの皮下注射のいずれの麻酔下で開腹して処置しても，殆んど差がなく，それぞれ 1 時間以後において 96.2% (104 個のうち 100 個) 及び 93% (57 個のうち 53 個) の卵子が第 2 極体を形成する．なおこれらの実験において無反応の個体は 2 個体であった．

2. 第 2 極体の形成に及ぼすラボナールの濃度及び冷却水の温度の影響

第 2 表の結果から，第 2 極体の形成には卵子への直接の刺戟が効果的であろうことが考えられる．そこで刺戟の強さ，換言すれば，適用する濃度や温度が第 2 極体の形成に如何なる影響を与えるかを，ラボナール及び冷却水を用いて検した．その結果は第 3 表の通りであった．

すなわち，ラボナール処置では 68 匹中 8 匹，冷却水では 30 匹中 2 匹において，誘起処置による反応がなかったが，残りの大部分のラットは反応を示した．しかしながら，さきの実験でラボナールの 1% 液では処

TABLE 3. Influence of ravonal concentration or temperature of cold water treatment upon second polar body formation in rat ova

Treatment*	Concentration or temperature	No. examined		No. of ova with induced second polar body observed at various intervals after treatment									
				Induced rarely		Induced abundantly							
				1 hr.	$1-1\frac{1}{4}$ hrs.	$1-1\frac{1}{2}$ hrs.	$1\frac{3}{4}$ hrs.	2 hrs.	$2-2\frac{1}{2}$ hrs.	$3-3\frac{1}{2}$ hrs.	Total No. of rats	Total No. of ova	%
Ravonal : $\frac{1}{4}$ min.	0.5%	16	158	8/23	24/36	39/49	26/28	18/22	·	·	9/11	83/99	83.8
	0.4%	31	303	2/13	6/23	11/41	34/51	45/73	25/33	48/69	21/25	152/226	67.3
	0.3%	21	188	0/21	6/29	7/28	9/28	9/21	8/19	23/42	8/10	40/82	48.9
Cold water : 1 min.	3～4℃	17	181	0/15	15/40	56/58	54/57	11/11	·	·	12/13	121/126	96.0
	5～6℃	13	128	1/9	7/19	23/31	40/46	21/23	·	·	6/7	61/69	88.4
Total		98	958	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·

Remarks. * Applied to oviducts.

Rats were operated under ether anesthesia for 5—10 minutes.

** No. of rats or ova with induced second polar body/No. of rats or ova examined.

置後1時間で93% の卵子に第2極体の形成がみられたのに対し，0.5%，0.4%，0.3%と卵管に適用するラボナールの濃度を低くすると，顕著な第2極体の形成に要する時間は，概略1 1/2時間，1 3/4時間，2時間と延長される傾向がみられると同時に，第2極体を形成する卵子の比率は0.5%液では83.8%（99個のうち83個），0.4%液では67.3%（226個のうち152個），0.3% 液では48.9%（82個のうち40個）と濃度の低くなるにつれて低下する傾向がみられた．

また，第2表に示すように水を直接卵管に適用すれば，処置後1時間以後に93～96.2%の卵子が第2極体を形成するが，冷却水の3～4℃の場合は処置後約1 1/2時間で96%（126個のうち121個），5～6℃の場合は処置後1 1/2時間では74.2%（31個のうち23個）でやや低いが，1 3/4時間以後においては88.4%（69個のうち61個）の卵子に第2極体の形成をみており，ラボナールの場合と相似た傾向を示している．

3. 各種溶液の子宮角内注入による第2極体の形成

各種溶液を開腹手術により，子宮角内に注入する方法によって第2極体の形成をみた結果によると，処置ラット93匹のうち11匹は無反応であったが，その他は第4表に示すように種々な程度に第2極体の形成を

TABLE 4. Influence of injection with various solutions to uterine horns on induction of second polar body in rat ova

Solution* injected	Anesthesia employed at operation	No. examined		No. of ova with induced second polar body observed at various intervals after injections**									
				Induced rarely			Induced abundantly				Total		
		Rats	Ova	22～1/2 hrs.	3～3 1/2 hrs.	3 3/4 hrs.	4 hrs.	4 1/4 hrs.	4 1/2 hrs.	4 3/4～7 hrs.	No. of rats	No. of ova	%
0.85% NaCl	Ether : 5—10 mins.	27	255	0/19	2/65	23/44	48/66	35/49	9/12	·	12/15	92/127	72.4
	1% ravonal	4	32	·	·	·	15/23	7/9	·	·	3/4	22/32	68.8
	None	3	29	·	·	·	22/29	·	·	·	3/3	22/29	75.9
Rat serum	Ether : 5—10 mins.	19	181	4/18	0/41	1/21	1/21	1/22	12/32	8/23	5/7	20/55	36.3
5000 V.U.M. sprase	//	9	52	·	·	·	·	·	·	30/52	8/9	30/52	57.5
Tyrode	//	7	59	·	·	·	·	·	·	11/59	7/7	11/59	18.6
Ringer	//	3	35	·	·	·	·	·	·	4/35	3/3	4/35	11.4
5% glucose	//	4	30	·	·	·	·	·	·	17/30	3/4	17/30	56.7
Rat sperm extract	//	5	31	·	·	·	·	·	·	24/31	4/5	24/31	77.4
Rabbit sperm	//	6	52	·	·	·	·	·	·	38/52	5/6	38/52	73.1
Rabbit sperm serum	//	3	28	·	·	·	·	·	·	21/28	3/3	21/28	75.0
Cock sperm	//	3	22	·	·	·	·	·	·	7/22	2/3	7/22	31.8
Total		93	806	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·

Remarks. * The lower part of the uterine horn was ligated before injection.

** No. of rats or ova with induced second polar body/No. of rats or ova examined.

みている．

すなわち，0.85%食塩水の子宮角内注入においては約4時間以後において，68.8～75.9%の卵子に第2極体の形成をみており，精子浮遊液，家兎精液，家兎精清の場合はそれぞれ，77.4%（31個のうち24個），73.1%（52個のうち38個），75%（28個のうち21個）の卵子が第2極体を形成してその率が高く，次いで5,000V.U.M.ストレプトマイシン液及び5%ブドウ糖液か，それぞれ57.5%（52個のうち30個），56.7%（30個のうち17個）でやや低い．ラット血清の場合は4 1/2時間以後において36.3%（55個のうち20個），鶏精液の場合は31.8%（22個のうち7個），であって共に低率であった．さらにタイロード液，リンガー液の場合は18.6%（59個のうち11個），11.4%（35個のうち4個）と極めて低かった．これら四者を比べるとin vitroで高率に第2極体を形成する血清，タイロード液，リンガー液の場合がin vivoにおいては低率であり，0.85%食塩水，5%ブドウ糖液のように，in vitroでは卵子が溶解されるような溶液が，かえってin vivoでは高率に第2極体を形成せしめることである．

なおこれらの結果は，エーテル，ラボナール等の手術のために用いる麻酔剤の影響ではなかろうと考えられる．なぜなれば，第2表に示すようにこれらの吸入または皮下注射によっては始めに第2極体の形成がみられず，かつ第4表に示すように0.85%食塩水の場合，無麻酔で無菌下で右第2極体の形成が可能であるからである．

B. 卵令からみた第2極体形成能

ラット卵子の生活能力保有時間を知るために，排卵後一定の時間を経過した卵子を冷却水（3～4℃）の処置を行なって，第2極体の形成が行なわれるか否かを検して，第5表の成績を得た．すなわち排卵後

TABLE 5. Induction of second polar body by cold water (3—4℃) treatment at various intervals after ovulation in rat ova

Interval between ovulation and treatment(or observation)		12 hrs. $(13\frac{1}{2}\ 14\frac{1}{2})$	14 hrs. $(15\frac{1}{2}\ 16\frac{1}{2})$	16 hrs. $(17\frac{1}{2}\ 18\frac{1}{2})$	18 hrs. $(19\frac{1}{2}\ 20\frac{1}{2})$	20 hrs. $(21\frac{1}{2}\ 22\frac{1}{2})$	22 hrs. $(23\frac{1}{2}\ 24\frac{1}{2})$	Total
Number examined	Rats	3	3	4	4	6	5	25
		10						
	Ova	31	32	38	39 (1)*	58 (1)* (9)**	49 (16)* (9)**	247
		101						
Ova with second polar body	Number	29	28	35	31	41	20	
		92						
	%	93.5	87.5	92.1	79.5	70.7	40.8	
		91.1						

Remarks. * No. of ova forming 'polar-body-like' cell. ** No.of ova cleaving.

12～16時間に処置した卵子では91.1%（101個のうち92個：排卵後の経過時間別に87.5～93.5%）の卵子に第2極体の形成がみられ，排卵後18時間では79.5%（39個のうち31個），20時間では70.7%（58個のうち41個）でやや低く，排卵後22時では急激に低下し40.8%（49個のうち20個）の卵子が第2極体を形成

した．なお，'極体様細胞'('polar body-like cell') の形成した卵子は，排卵後20時間で処置したもの（観察は1 1/2～2 1/2時間後，以下の場合も同じ）で1個，22時間のもので16個であり，分割卵子は排卵後18時間で処置したもので1個，20時間及び22時間のもので共に9個みられた．

C. 極体の分類と運命

排卵前及び排卵後もまれにみられる大きいしっかりした極体を'A'型とし，排卵後の形態的に変化した小さい極体を'B'型とし，新たに形成した第2極体を'C'型とし（第1～2及び4図），さらに第1極体の分割した場合を'B″'型，第2極体の分割したものを'C″'型とするとき，極体のあり方としては，第2極体未形成の場合は'A'型，'B'型の極体1個の場合（第1～2図），極体を消失した場合，'B″'型の極体2個の場合が考えられる，第2極体を形成した場合は，'A＋C'型，'B＋C'型の極体2個の場合のほか，'C'型の第2極体のみの場合，'B′＋C'型，'B＋C″'型の極体3個の場合，その他が考えられる（第4～9図）．よって筆者は，現在までに観察した無処置の場合，第2極体誘起処置を行なった場合，及び有精交配の場合の総計3,542個のラット卵子について極体の分類を行なった．その結果は第6表の通りである．

排卵後の卵子の総計3,542個（無処置418個；第2極体誘起処置，2,901個；有精交配，223個）のうち，

TABLE 6. Classification of polar body in 3542 rat ova

Group (Treatment)		No. of ova observed	No. of ova with various types of polar body*								
			Second polar body absent				Second polar body present				
			No polar body	1 polar body		2 polar bodies	1 polar body	2 polar bodies		3 or more polar bodies	
				'A' type	'B' type	'B″' type	'C' type	'A＋C' type	'B＋C' type	'B′＋C' type	Other types
No treatment		418	48	15	346	2	·	·	7	·	·
Treatment for second polar body formation	in vitro	485	11	3	175	3	18	4	259	9	3
	in vivo	2416	108	1	1018	2	120	1	1155	6	5
	Total	2901	119	4	1193	5	138	5	1414	15	8
Fertile mating		223	19	·	147	·	11	·	45	1	·
Total		3542	186	19	1686	7	149	5	1466	16	8
Percentage of ova with various types of polar body			9.8	1.0	88.8	0.4	9.1	0.3	89.2	1.0	0.4
			100% (1898)				100% (1644)				

Remarks. *No first polar body was observed in 335 (9.5%) of 3542 ova.

第2極体未形成の1,898個の卵子についてみると，極体'A'型は1%（19個）にすぎず，88.8%（1,686個）は'B'型であった．第1極体を消失したものは9.8%（186個）であり，第1極体の分割した'B″'型は0.4%（7個）存在した．第2極体を形成した場合の1644個の卵子では，'B＋C'型が89%（1466個）をしめ，'A＋C'型は0.3%（5個），第2極体のみを有する卵子は9.1%（149個）であり，3個以上の極体を有するものは1.4%（24個）で，'B′＋C'型のほか，'B＋C″'型，第1及び第2極体共に分割したものも存在した（第9図）．なお以上の3,542個の卵子のうち，第1極体を消失したものは335個（9.5%）であった．

D. 第2極体形成後の卵子の分割

イ 組織学的変化

第2極体誘起処置を行なって，その後の卵子の細胞学的状態を，冷刺戟の場合は切片法により，ラボナール及び冷却水の場合はスライド染色法によって観察したが，その結果は第7表及び第A図の通りである．なお，処置後第2極体の形成に至るまでの時間は，冷刺戟では1時間，ラボナールの0.4%液では1 3/4時間，0.5%液及び冷却水（3～4℃）では1 1/2時間である（第2～3表）．

すなわち，冷刺戟の場合は処置後1時間では染色体の凝縮（密に集合しているものを含む，以下同じ）しているもの（第10～13図）が始んど（20個のうち18個）であるが，3時間に至れ，やや減少し（15個のうち10個），早いものでは染色体の分散を来す．処置後5時間（形成後4時間）では約半数の卵子に染色体の

TABIE 7. Cytological observations of unfertilized rat ova at varying intervals after artificial induction of second polar body

Treatment	Cold shock (ice)				Cold water (3～4℃)				Ravonal solution 0.4%				0.5%			
No. of rats examined*	13/14				21/24				16/19				15/16			
No. of ova with second polar body*					191/207 (92.3%)				134/169 (79.3%)				151/167 (90.4%)			
Interval between ovulation and killing / No. of ova observed	At metaphase	With chromosomes: Condensed	With chromosomes: Scattered	Total	At metaphase	With chromosomes: Condensed	With chromosomes: Scattered	Total	At metaphase	With chromosomes: Condensed	With chromosomes: Scattered	Total	At metaphase	With chromosomes: Condensed	With chromosomes: Scattered	Total
1 hr.	1	18	1	20	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
3 hrs.	1	10	4	15	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
5 hrs.	2	9	10	21	1	16	3	20	3	16	2	21	5	24	1	30
7 hrs.	0	8	20	28	3	26	7	36	6	28	9	43	6	28	12	46
9 hrs.	0	2	12	14	4	33	17	54	10	21	19	50	6	15	20	41
11 hrs.	·	·	·	·	6	43	35	84	7	9	26	42	3	4	30	37
Total	4	47	47	98	14	118	62	194	26	74	56	156	20	71	63	154

Remarks. * No. of rats or ova with induced second polar body / No. of rats or ova examined.

分散がみられ，処置後7時間（形成後6時間）では約70%（28個のうち20個），9時間では大部分の卵子（14個のうち12個）に染色体の分散がみられる（第14～15図）．0.4%ラボナールの場合は79.3%（169個のうち134個）に第2極体の形成がみられ，処置後5～7時間（形成後3 1/4～5 1/4時間）では染色体の分散している卵子は少い（計64個のうち11個）が，処置後9時間（形成後7 1/4時間）では38%（50個のうち19個），11時間では62%（42個のうち26個）の卵子が染色体の分散を来す．さらに0.5%ラボナールでは第2極体の形成は90.4%（167個のうち151個）の卵子に観察されるが，処置後5～7時間（形成後3 1/2～5 1/2時間）では染色体の分散している卵子は0.4%の場合同様に少いが（計76個のうち13個），9時間では49%（41個のうち20個），11時間（形成後9 1/2時間）では大部分（81%または37個のうち30個）の卵子に染色体の分散を来し，0.4%の場合よりも，染色体の分散した卵子の増大が観察された．また冷却水（3～4℃）の処置では92.3%（207個のうち191個）の卵子に第2極体の形成をみるが，処置後5～7時間

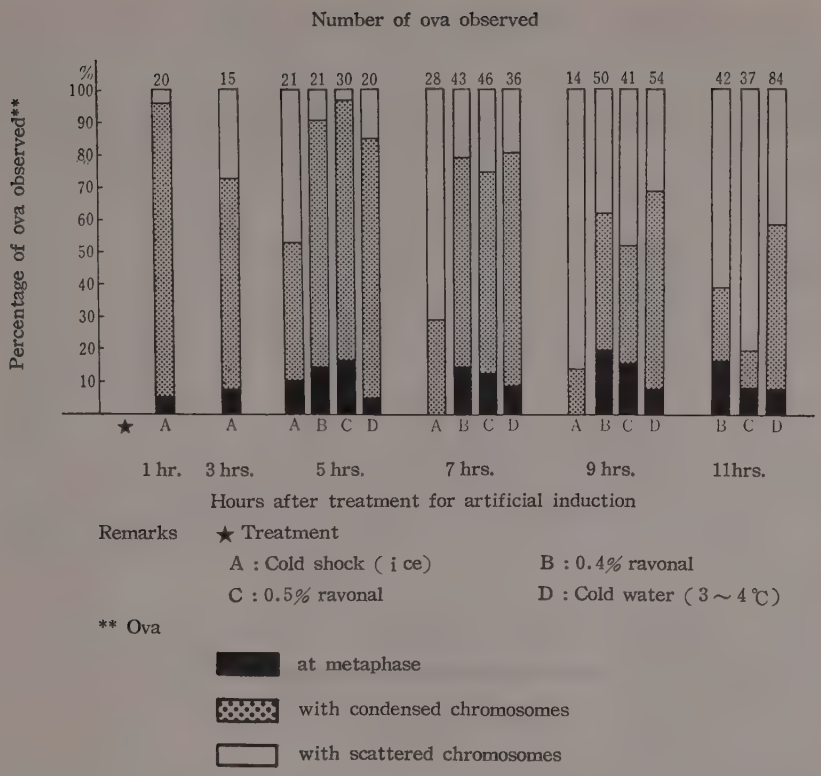


Fig. A. Cytological observations of unfertilized rat ova made at varying intervals after artificial induction of second polar body

では染色体の分散している卵子は少く，9時間では31.5%（54個のうち17個），11時間では42%（84個のうち35個）であって，上記いずれの場合よりもやや長く染色体が凝縮した状態にあった．なお，時間の経過に伴って生ずる染色体の分散している卵子の割合は，ラットの個体間においても若干その趣きを異にした．

ロ．分　割

冷刺戟及び0.4%ラボナール液を直接卵管へ適用することによって，第2極体を形成せしめた卵子，換言すれば半数体卵子の分割の状態を，処置後27～29時間（排卵後30時間）と処置後35～37時間（排卵後38～39時間）の卵子について，無処置の場合と比較して示すと第8表及び第16～19図の通りである．

すなわち，処置後27～29時間において，冷刺戟の場合は41%（46個のうち19個）が分割して最高7細胞期までにあり，0.4%ラボナール処置では43%（49個のうち21個）が分割して最高10細胞期までにあった．処置後35～37時間では，冷刺戟の場合は72%（54個のうち39個）が分割して最高8細胞期までの種々の細胞期にあり，0.4%ラボナールの場合は58%（52個のうち30個）が最高10細胞期までに分割していた．これらの結果を無処置の場合の排卵後30時間で47%（143個のうち67個：最高10細胞期），排卵後38～39時間で79%（97個のうち72個：最高14細胞期）の卵子が分割するのに比較すれば，0.4%ラボナール処置の35～37時間（排卵後38～39時間）においてやや低いが，その他の場合は大差なく，しいていえば分割の進展において，処置した場合がやや低い程度である．なお，確言はなし得ないが冷刺戟の処置後

TABLE 8. Cleavage of unfertilized rat ova after induction of second polar body

Intervals between ovulation (or treatment) and killing	Treatment	No. examined		No. of ova at various stages*												Ova cleaving	
		Rats	Ova	1-cell stage**	2-cell stage	3-cell stage	4-cell stage	5-cell stage	6-cell stage	7-cell stage	8-cell stage	10-cell stage	12-cell stage	14-cell stage		No. observed	%
(hrs.)	None	15	143	76	10 (3)	15 (5)	13 (2)	11 (1)	6	4	5	3				67 (11)	47
30 (27～29)	Cold shock	5	46	27 (4)	6 (1)	7 (1)	2	2	1	1						19 (2)	41
	0.4% ravonal	5	49	28 (7)	3 (2)	2 (1)	3	6 (2)	4	2		1				21 (5)	43
38—39 (35～37)	None	12	97	25	4	4	7	5	15	8	7	15	5	2		72 (?)	79
	Cold shock	6	54	15 (5)	6 (4)	12 (6)	10 (2)	8 (1)	1		2					39 (13)	72
	0.4% ravonal	5	52	22 (5)	5 (2)	3 (1)	6 (1)	4 (1)	5	3	3	1				30 (5)	58

Remarks. * The figure in parentheses indicates the number of pseudo-normal ova.

** The figure in parentheses indicates the number of ova with polar bodies cleaving.

35～37時間において，2～3細胞期の pseudo-normal ovum の増大の傾向があるのではないかと思われる．また処置した場合の計92個（冷刺戟42個，0.4%ラボナール処置50個）のうち21個（約23%；冷刺戟で9個，0.4%ラボナールで12個）に極体の分割が観察され（第8～9図），このような事実は第1極体だけでなく，第2極体にもおこることが観察された．

E. 考　察

イ　第2極体の形成

in vitro，及び in vivo において各種の処置を行なって，ラット卵子の第2極体形成の問題を検討した結果，in vitro の処置ではタイロード液，リンガー液，血清は精子浮遊液と差がなく，処置後1時間で80%以上の卵子に第2極体の形成をみ，2,000—，4,000V.U.M. スプラーゼ液ではやや低く58～64%にみられることを確めた．これはスプラーゼ液がラット卵子に若干の悪影響を与えたためであろうと考えられる．子宮分泌液では卵子に若干の溶解がみられて第2極体の形成がなく，0.85%食塩水，5%ブドウ糖液では卵子が溶解されて実験をなし得なかった．THIBAULT[85]は低張液，高張液処理によって，よい成績を得ることが出来なかったが，これは液の滲透圧のためであろうと推察される．またMORICARD & FONBRUN[60]はラットやマウスの卵巣内卵子を培養するとき，第1極体形成後にまれに第2極体を形成することを報じているが，これは卵子の成熟度，培養条件等に左右されて，高率に第2極体を形成するに至らなかったためと解される．以上の事実よりして，元来ラット卵子は適当な液で保存されれば，そのすべてに第2極体を形成する可能性を有するものと考えて差支えなかろう．

筆者の in vivo における冷刺戟の処置，すなわち直接卵管に水を処置することによって事実上すべての卵子に第2極体を形成せしめて，よく従来の研究者の成績[16,85]と一致したが，エーテル麻酔の場合は一致しなかった[16,85,87]．すなわち，AUSTIN & BRADEN[16]は種々な麻酔剤の第2極体形成作用を検討し，エーテル麻酔では64%の卵子が，1～1 1/2時間後に第2極体を形成するほか，クロロホルム（44%），ナイトラスオキサイド（55～74%），ネムブタール腹腔内注射（26%）も効果があり，ネムブタールの皮下注射，熱刺

戟，精子浮遊液では殆んど，或いは全く第2極体は形成されないことを明らかにし，THIBAULT[87]もエーテル麻酔が76%の卵子に第2極体を形成せしめると称している，そしてエーテルの第2極体形成作用については，酸素欠乏による直接的なものと，間接的に体温の低下を来すためと考え[87]，或いは卵子または卵子の環境に対する直接の作用のためであろうとAUSTIN & BRADEN[16]は推測している．しかるに筆者の実験によれば，エーテルの吸入麻酔のみでは殆んど影響をみないが（3.1～13.9%），卵管に直接エーテルを適用すれば1時間で殆んどすべての卵子(95.1～96.5%)に第2極体の形成をみ，しかも同一個体で検するとき，反対側の無処置の側にも約$^1/_4$時間の遅滞をもって高率に第2極体の形成をみている．さらにAUSTIN & BRADEN[16]の用いたネムブタールとよく似た麻酔作用を有する1%ラボナール液を使用した場合，その皮下注射のみでは僅か2.7%であるが，これを直接卵管に与えれば，93.8%の卵子が第2極体を形成することも確めた．これらの成績よりして筆者は，エーテル，ラボナール，冷刺戟の第2極体形成作用は，卵子に対する直接の刺戟に基ずくものであると考える．

またラボナールの濃度を0.5%，0.4%，0.3%と低くするとき，第2極体の形成をみる卵子の割合はそれぞれ83.8%，67.3%，48.9%と低下し，逆に第2極体の形成に要する時間は$1\,^1/_2$時間，$1\,^3/_4$時間，2時間と延長されること，及び冷却水の3～4℃のものでは$1\,^1/_2$時間以後に96%，5～6℃のものでは$1\,^3/_4$時間以後に88.4%の卵子が第2極体を形成する事実（第3表より）して，第2極体の形成は刺戟の強さと深い関係を有することをも知った．

さらに各種溶液の子宮角内注入によって，0.85%食塩水の場合は68.8～75.9%の卵子に第2極体の形成をみているが，これらの結果は注入した溶液が直接卵子に刺戟を与えたことによるものと考えられる．なぜなれば筆者の実験においては，各種の処置を行なうために用いるエーテルの5～10分吸入麻酔では3.1%の卵子のみが第2極体を形成するにすぎず，かつラボナールの皮下注射による麻酔，或いは無麻酔で手術して0.85%食塩水の注入を行なっても，殆んど同率に第2極体の形成をみるからである．(第4表)．またAUSTIN & BRADEN[16]の称するように，若しエーテルやその他の麻酔剤によって1～$1^1/_2$時間で第2極体を形成するものであれば，筆者の実験においても注入後$3\,^1/_2$時間まで第2極体を形成した卵子が存在しないということはない筈であって，この点からみても上記のように考えられるのである．エーテルの吸入麻酔による彼我の成績の相違の原因が奈辺に存するかは，一層綿密な検討を要すると考えられるが，この成績よりみるとき，ラットの品種や個体差に基づく反応性の差違，エーテルの純度等が考えられるかもしれない．

AUSTIN & BRADEN[16]は精子浮遊液を卵巣嚢内に注入して殆んど第2極体の形成をみていないが，筆者は精子浮遊液，家兎精液，家兎精清のいずれにおいても73～77%の卵子に第2極体の形成を観察した．この結果の相違は彼等が卵巣嚢に注入するという方法によったために，卵子に作用するに至らなかったのであろうと推測される．また筆者の実験において，in vitro で高率に第2極体を形成せしめる血清，タイロード液，リンガー液等が，子宮角内注入によっては低率によりも形成せしめ得なかったのは，0.85%食塩水や5%ブドウ糖液が in vitro では卵子が溶解されて実験出来なかったのに対し，in vivo ではよく第2極体を形成せしめる事実と対照的である．これらの現象は，刺戟の強さと与え方が卵子の種々な程度の反応をよびおこすのに必要な条件であることを示すものと言えよう．

なお，ハムスター[7]では76～81%の卵子は自然に活性化された卵子であり，その大部分に第2極体が観察されるが，低温処理は若干の好影響を与え，マウス卵子[28]は熱刺戟（67個のうち21個）やエーテル麻酔（98個のうち7個）で第2極体を形成し，冷刺戟では無効である．家兎卵子は各種の処置によって第2極体を形

成するか[51,70,74,91~92,94~95]，反対に冷刺戟やその他の処置によって第2極体を抑制する場合も多く[33,71~72,75~76,84,87]，緬羊の卵子も冷刺戟に対し家兎同様の態度をボす[87~88]．これら各種哺乳動物卵子の種々な処置に対する反応の差違はまことに興味深い現象であり，それは卵子の内蔵する生理的，生化学的特質に基づくものであろう。いずれにしても今後の研究に俟つべき問題である．

以上の実験の結果から，筆者はラットの第2極体の形成には物理的，化学的な諸種の刺戟が必要であり，精子は最も最効適切な刺戟の手段ではあろうが，その存在は必須の要件ではないと考える．

ロ．卵令からみた第2極体形成能

卵子の受精能力保有時間，或いは卵子の生命については，各種動物について主として受胎試験による結果が報告されている．一般に卵管において粘液層で被われる動物の卵子にあっては，その付着しはじめるよりも若干時間前に受精力を消失し[36,70]，家兎，ラット，モルモット，フエレット等の卵胞細胞群にかこまれて排卵される動物の卵子にあっては，卵子の裸出の時期と緊密な関連を有し[30,32,36,64]，完全な裸出の時期よりも若干時間前に受精力は消失するようである．

筆者はラット卵子の生活力保有時間を，第2極体形成能力を目安として判定した結果，排卵後16時間までは排卵直後と殆んど変らず（91.1%），排卵後18時間ではやや劣って79.5%，20時間ではさらに僅か劣って70.7%，22時間では急激に低下して40.8%の卵子が第2極体を形成することを知った．さらに退化の徴候である‘極体様細胞’の形成（第16図）や，分割卵子の出現も排卵後20時間以後に処置（観察は $1\frac{1}{2}$～$2\frac{1}{2}$時間後）した卵子において増加することを観察した．これらの結果からラット卵子の生活力保有時間は概略排卵後22時間と考えて大過ないものと考える．また筆者のさきの観察[46]において，染色体の分散した卵子のみられるのは排卵後24時間以後であるから，染色体の分散を来す直前までラット卵子は生活力を有すると考えられ，このことは直ちにラット卵子の受精力保有時間と見做すことは出来ないとしても，概略の目安となるであろう．

以上の結果はPINCUS[70]のラットの受精能力保有時間の記録，すなわち排卵後12時間或いは10～20時間と称しているのよりもやや長く，受精に要する時間を5～6時間と計算するとき，排卵後15時間以後の卵子においても受精の可能性が推測出来るかもしれない．しかしながら，正常妊娠の限界は排卵後10時間までと報告[22,26,64]されているので，受精はなし得ても着床や出産に至るか否かは検討の余地を残しているものと考えられる．

また家兎卵子の受精能力保有時間は排卵後6時間[42]，或いは受胎し得る極限の交配は排卵後8時間[32]と称され，マウス卵子は約12時間受精力を保有するか[56]，卵子をHostへ移植することによってしらべた結果では，取扱いのためか，仔の出産は排卵後4時間のものまでであったと報告[79]されているので，ラット卵子の受精力保有時間は家兎よりも長く，マウスとほぼ同じか，やや長いと推測出来る．しかしながらモルモットでは排卵後10～20時間[70]，或いは12時間で妊娠率は低下するが，排卵後20時間で妊娠した例があり[25]，フエレットでは排卵後30時間でも受精し得る[42]といわれているので，これらのものよりやや短かいといわねばならない．さらに卵子の裸出の極めて急速な有蹄類卵子の受精力保有時間は割合短かく[40]，牛では最大発情終了後24時間[55]，雌許容終了後9時間30分が産仔を得た極限の時間であると称され[59]，馬では排卵後2～6時間或いは8～14時間が限度[52,80~81,96]，緬羊では24時間以下[39,78]，豚では排卵後平均15.5時間（10～21時間）[49]と称されているので，ラット卵子はこれら有蹄類卵子よりも僅かに長く受精力を保有するか，または殆んど同じであると推測される．

ハ．極体の分類と運命

第1極体が従来考えられていたように，排卵前又は排卵後間もなく消失するものではなく，形態的には異なった様相を呈するとしても，相当長時間にわたって存続することを筆者はさきに確認した[45]．また筆者は排卵後の極体 'B' は排卵前の極体 'A' の退化型であって，共に第1極体であると考える（第1～2図）．排卵後の第2極体未形成の場合の1,898個の卵子についてみると，排卵後の極体はその殆んどが 'B' 型（88.8%）であり，完全な，或いはやや退化型の 'A' 型も若干存在し（1%），極めて早期に極体が退化消失しているものは僅か（9.8%）であることも明らかにした（第6表）．故に第2極体を形成した場合はその殆んど（89.2%：1,644個のうち1,466個）は 'B＋C' 型であり，GILCHRIST & PINCUS[38]，AUSTIN & BRADEN[16]の称するように，極体1個の状態でそれが第1極体か，第2極体かを判定せずとも2～3個の極体によって判別することが可能である．第2極体のみの場合（9.1%：'C' 型）も，前記極体の形態的様相を把握して判別すれば，KIRKHAM[53]の誤認したようなこともなくそれが第2極体であることを識別出来るであろう（第4図）．ODOR[63]は第1極体は Fragmentation を行なって消失すると述べているが，彼の称する極体の Fragmentation は一般に卵子のそれに用いられている整，不整の細胞分割の意味においてとりあげられているのではなく，ただ形態的に小さく，弱々しくなっているという程度の考えのようであって，極体の分割した証拠も示されていないのである．筆者は3千5百余の全裸にしたラット卵子の観察を通じて，極体及び極体の染色体が退化型にあることを確認し，極体 'A' にもやや退化型のもの，極体 'B' にもやや大きくしっかりしたものから，弱々しいものまであることを見出し，さらに第2極体を誘起した場合に染色質を含んで極体が分割しつつあるもの，又はすでに分割したものを見出した．これらの極体の分割は第1極体のみではなく，第2極体にもおこることがあり得るのである（第8～9図）．換言すれば，第1極体の分割した第3極体の存在以外に，極体多数の場合の可能性が考えられるのである．ラットの卵子の退化の過程が分割の進行であるならば，極体のそれも例外ではないであろう．しかしながら，極体は卵子そのものとは異り，卵原形質を含むことが極めて僅少であるから，すべての極体が分割して退化するか否かは明らかでないが，このような過程を通じて排卵後遅い時期に，消失への道を辿る場合も当然存在するであろうと考えられる．

ニ．第2極体形成後の卵子の分割

第2極体形成後の卵子の染色体は凝縮しているが，その後間もなく分散がおこることは，ラット，マウス，フエレット等の卵子にエーテル麻酔，冷刺戟，温熱刺戟を与えた場合について報告されている[7,16,18,28,35]．しかしながら，これらの報告は断片的であり，処置後の時間的経過との関連が明確でない．よって筆者は冷刺戟，ラボナール，冷却水を卵管へ適用する方法によって，第2極体を形成せしめた卵子の細胞学的状態を，処置後種々な時間に計画的に追究した（第7表及び第A図）．この結果，冷刺戟の処置では染色体の凝縮している時間が短かく，処置後3時間以後において染色体の分散がみられ，時間の経過と共にこの状態の卵子は増大し，処置後9時間に至れば殆んどすべての卵子が染色体の分散を来すことを観察した．ラボナールの処置では冷刺戟の処置よりも，経過時間に伴う染色体の分散した卵子が少く，0.4%液の処置後9～11時間では38～62%，0.5% の処置後9～11時間では49～81%で，0.5% の場合がやや早く染色体が分散することを観察した．さらに冷却水の処置後5～7時間では染色体の分散した卵子は少く，9～11時間では32～42%であった．また経過時間に伴って生ずる染色体の分散している卵子の割合は，ラットの個体間でも若干の相違を示したが，これは刺戟の与え方や卵子の抵抗力の差違に基づくものであろう．これらの結果は，強

すぎる刺戟は卵子の生存に悪影響を与えるが，適当な刺戟で第2極体を形成せしめられた卵子は第2成熟分裂中期の階梯よりも一歩すすんだ状態で，若干時間生存することが可能であることを示すものである．なお，ハムスター[7]では，排卵後13～17時間以後において自然に第2極体を形成して核を有するに至り，24時間以後に紡錘糸を形成するが，その後染色体は分散して分割はおこらない．しかしながら，かかる自然に形成した核がラットの場合の染色体の凝縮と同様の意味を有するか否かは明らかでない．

また処置後の卵子は時に1個の大きい核を形成する事実や[18]，若干の不確実な単為生殖的発育の例の報告[18,20]も存するが，多くの場合2個または数個の副核を有するものが形成される．これらの核は染色体の分散から生じたものであろうと推測され[16,18]，その後分割もおこるが，これらの現象は家兎卵子のそれに擬して，卵子活性化の考えのもとに取扱われ，各種の処置が卵子の分割に対して好影響を与えたものとして報告されている[7,18,28,35]．

筆者は処置後の卵子の分割の問題を検討した結果，処置後27～29時間（排卵後30時間）では0.4%ラボナール処置では43%（最高10細胞期），冷刺戟では41%（最高7細胞期），が分割して種々の細胞期に達し，処置後35～37時間（排卵後38～39時間）に至れば，0.4%ラボナール処置では58%（最高10細胞期），冷刺戟では72%（最高8細胞期）の卵子が分割していた．しかしながら，これらの結果を，無処置の排卵後47%（最高10細胞期），排卵後38～39時間で79%（最高14細胞期）の卵子が分割するのに比較すれば，どちらかといえば分割卵子の割合，分割の進展において低いように見受けられるのであって，この点からして筆者は従来の諸氏の見解[7,18,28,35]に対して疑義を有するのであって，各種の処置がその後の卵子の分割に対して特に好影響を与えるものとは考えられない．むしろかかる分割の状態は個体間，或いは卵子個々の間においてその差違が認められるものであろう．また冷刺戟の処置後35～37時間において，Pseudo-normal ovum の増大（39個のうち13個）を示しているやに見受けられたが，無処置の場合を調べておらず，かつ動物の個体差の問題もあるので，その結果の意味するところは明らかでない．

なお，BRADEN & AUSTIN[28]はマウス卵子に熱刺戟を与えた時に，染色体の内部への移動がおこり，同時に‘極体様細胞’を形成して，引続いて分割がおこることを観察し，かかる現象に対して特殊な取扱いをなし，Immediate cleavage なる呼称を与えた．しかしながら，このような‘極体様細胞’の形成は筆者も処置後のラット卵子において観察しているが（第16図），これらの現象は処置後の卵子におこる特有のものではなく，自然の場合にも頻繁に観察され，ラットの未受精卵子の分割の機構は，本来 Immediate cleavage であると考えられることは筆者[46]がさきに明らかにした通りである．

以上の結果から，ラットにおける第2極体の誘起処置が適当であれば，卵子は相当時間にわたって第2成熟分裂中期の階梯よりも一歩すすんだ状態に達して生存するが，結局は染色体の分散を結果として，最終過程としての分割へすすむものであることがわかる．また既に記したように各種の処置が，卵子の分割の現象を促進するという従来の考え方にも若干の疑義の存することをも知る．そして筆者は単為生殖的発育ということとは，単に現象が似ているとか，第2極体の形成ということとは区別するのが適当と考える．換言すれば，卵子の Activation とは単為発生的な方向へのものと，第2極体の形成のような卵子の成熟の方向へのものとが存し，両者は区別して取扱うのが適当と考える．かくみてくると，ラットにおける人工的単為発生の可能性は，現在のところ問題ではないと考えられるし，もしそれば，人工的単為発生への手段は人工的倍数体形成の手段の発見にあるとも考えられるが，現在までのところ家兎で有効な第2極体誘導による倍数体形成の方法は，ラットではかえって第2極体を形成せしめて，かかる目的に対し無効であるからである．

F. 小 括

各種の処置を行なって第2極体を形成せしめて，その機構を明らかにし，処置後の卵子の細胞学的状態及び分割について追究して，卵子活性化，人工的単為発生の可能性について検討した．その結果は次の通りである．

イ．第2極体の形成

1. ラットの未受精卵子を，タイロード液，リンガー液，ラット血清，精子浮遊液の中で保存すると，79.1～81.9%の卵子は第2極体を形成し，2,000－,4,000V.U.M. スプラーゼ液ではやや低く，それぞれ64%，58%であった．子宮分泌液では第2極体を形成した卵子はなく，0.85%食塩水，5%ブドウ糖液では卵子が溶解されて実験出来なかった．なお，第2極体の形成に要する時間は1時間である．

2. エーテルの吸入麻酔では3.1～13.9%，ラボナールの皮下注射麻酔では2.7%に第2極体の形成をみるにすぎないが，エーテル，1%ラボナール，及び氷片（冷刺戟）を直接卵管に処置すると，処置後1時間で93～96.2%の卵子が第2極体を形成する．

3. 卵管に適用するラボナールの濃度が，0.5%の時は83.2%の卵子が$1\,1/2$時間で，0.4%の時は67.3%の卵子が$1\,3/4$時間で，0.3%の時は48.9%の卵子が2時間で第2極体を形成する．また冷却水の3～4℃の場合は96%の卵子が$1\,1/2$時間で，5～6℃の場合は$1\,3/4$時間で88.4%の卵子が第2極体を形成する．

4. 子宮角内に各種溶液を注入する方法によっても第2極体の形成をみる．すなわち，0.85%食塩水では68.8～75.9%，5%ブドウ糖液では56.7%，家兎精液及び精清では73.1～75%，5,000V.U.M. スプラーゼ液では57.5%の卵子が第2極体を形成する．しかしラット血清，タイロード液，リンガー液，鶏精液では11.4～36.3%にすぎない．なお，0.85%食塩水の場合第2極体の形成に要する時間は$3\,3/4$～4時間である．

ロ．卵令による第2極体形成能

排卵後種々の時間に冷却水（3～4℃）の処置を行なって，第2極体が形成されるか否かを目安として，ラット卵子の生活力保有時間を検討した．

1. 排卵後12～16時間，18時間，20時間及び22時間の卵子はそれぞれ91.1%，79.5%，70.7%，40.8%に第2極体の形成をみる．

2. 排卵後20時間で処置（観察は処置してから$1\,1/2$～$2\,1/2$時間後）した58卵子のうちに，'極体様細胞'の形成したもの1個，分割卵子9個が観察され，22時間で処置した49卵子のうちに，'極体様細胞'の形成したもの16個，分割卵子9個が観察された．

3. 以上の結果から，ラット卵子の生活力保有時間は概略排卵後22時間と推測される．

ハ．極体の分類と運命

排卵後のラット卵子3,542個について，極体の分類を行なった．

1. 第2極体未形成の場合の1,898個の卵子についてみると，極体'A'は僅か19個（1%）であり，その退化型，すなわち極体'B'が殆んどで1,686個（88.8%）をしめ，第1極体の分割した'B′'型は7個（0.4%），第1極体を消失したものは186個（9.8%）であった．

2. 第2極体を形成した場合の1,644個のうち，1,466個（89.2%）は'B＋C'型として観察され，'A＋C'型は5個（0.3%）極体3個の'B′＋C'型は16個（1%），その他の場合は8個であり，さらに第2極体のみの場合（'C'型）は149個（9.1%）であった．

3. これらの排卵後の卵子3,542個のうち第1極体を消失しているものは335個（9.5%）であった．

4. 極体は卵原形質を含むことが僅少なために，比較的早く退化型に移行して，結局は消失する運命にあると推測されるが，消失の時期は排卵後長時間を経てからである．この過程中に極体の分割がおこることがあるが，かかる現象は第2極体にもおこる．

ニ．第2極体形成後の卵子の分割

1. 第2極体形成後の卵子の染色体は凝縮しているが，冷刺戟の処置後3時間では27%，5時間では48%，7時間では70%，9時間では殆んどの卵子が染色体の分散を来たす．

2. ラホナールの処置後5～11時間の観察で第2極体を形成した卵子は，0.4%液の場合79.3%，0.5%液の場合90.4%であり，3～4℃の冷却水の処置では92.3%であった．

3. ラホナールの処置後5～7時間では染色体の分散している卵子は少いが，9時間では0.4%液の場合38%，0.5%液の場合49%の卵子に染色体の分散がみられ，11時間に至れば，0.4%液では62%，0.5%液では81%と染色体の分散した卵子は増加する．

4. 冷却水処置後7時間までの多くの卵子の染色体は凝縮した状態にあるが，処置後9～11時間では32～42%の卵子は染色体の分散を来たす．

5. 第2極体誘起処置後27～29時間（排卵後30時間）において分割した卵子は，冷刺戟では41%（最高7細胞期），0.4%ラホナールでは43%（最高10細胞期）であり，無処置の場合の47%（最高10細胞期）と大差なかった．

6. 処置後35～37時間（排卵後38～39時間）に至れば，冷刺戟処置では72%（最高8細胞期），0.4%ラホナール処置では58%（最高10細胞期）の卵子が分割しているが，この結果を無処置の79%（最高14細胞期）に比較すれば，分割卵子の割合，及びその進展において低いやに見受けられる．なお，冷刺戟の場合Pseudo-normal ovumがやや増大（39個のうち13個）しているようであるが，処置の影響か否かは明らかでない．

ホ．以上の結果から，ラット卵子の第2極体の形成には，物理的，化学的な諸種の刺戟が有効であり，精子の存在は必須の要件ではないと考えられる．さらに第2極体形成後の卵子は第2成熟分裂中期の階梯よりも一歩すすんだ染色体の凝縮した状態で若干時間生存するが，結局は染色体の分散を来たして退化過程としての分割へすすむ．しかしながら，各種の処置が分割の現象に対して好影響を与えるとは考えられなかった．また，少なくともラットの場合は人工的単為発生の可能性は現在のところ困難であろうと考えられる．

Ⅳ．第2極体形成後の受精と発育

人工的に第2極体を形成せしめた卵子は受精し得ないであろうとTHIBAULT[87]は推測したが，かかる推測は何らの実験に基づいたものではなかった．その後AUSTIN & BRADEN[16]は受精し得ることを証明している．しかしながら対照に比し受精率が相当低く，雄核形成に至るものはさらに低い．しかもその証明の方法において若干の疑義もあり，況んや雄核形成以後の階梯は一切不明である．よって筆者は人工的に第2極体の形成を行なわしめて後に交配するという方法を主とし，一部交配後第2極体の誘起処置を行なうも，精子侵入は第2極体形成後に行なわれるようにして，果して第2極体を形成した卵子が雄核形成を行なうか否かを検し，さらに以後の発育を行なって出産に至るか否かも追究した．

A．第2極体形成後の受精

イ．受　精

第2極体誘起処置として冷却水（3～4℃）を用うれば1 1/2時間，0.4% ラボナールでは1 3/4時間，冷刺戟を行なえば1時間，0.85%食塩水の子宮角内注入によっては3 3/4～4時間で第2極体を形成せしめ得る（第2～4表），よって処置後これらの時間を経過してから交配し，果して受精するか否かをみたが，その結果を交配後5時間と6時間にわけて，第2極体保有の有無別に示せば第9表及び第B図の通りであり，さらに精子侵入部位との関係で示すと第10表及び第C図のようである．

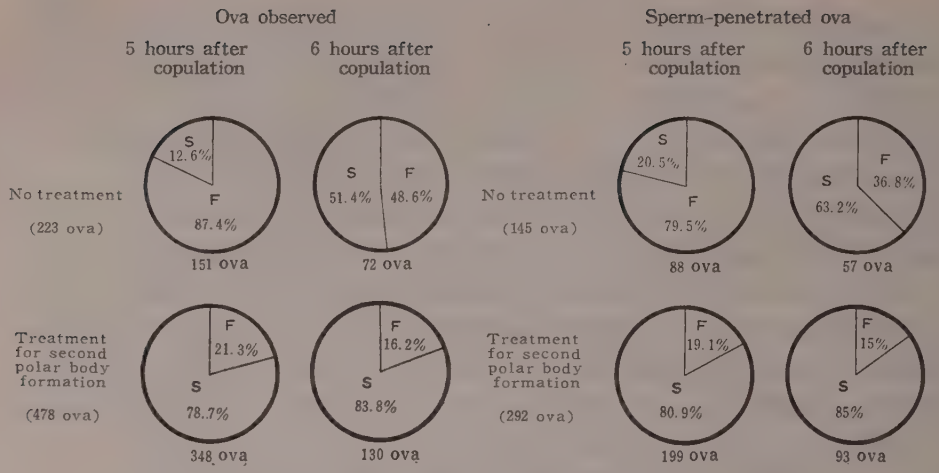
すなわち，供試ラット89匹のうち，10匹は第2極体誘起処置による反応がなく，10匹は精子が卵管内に存在したにかかわらず無侵入であった．残りの69匹から採取した701個の卵子の状態を第9表及び第B図でみると，交配後5時間における精子侵入率は，無処置の場合が58.3%（151個のうち88個），冷却水処置では53.5%（71個のうち38個），0.4%ラボナール処置では50.7%（67個のうち34個），冷刺戟では56.5%（108個のうち61個），0.85%食塩水処置では64.7%（102個のうち66個）で処置したものの平均は57.2%（348個のうち199個）であった．交配後6時間に至れば無処置の場合の精子侵入率は79.2%（72個のうち57

TABLE 9. Number of ova with and without second polar body in rats copulated after treatment for second polar body formation

Treatment		Interval between treatment (or ovulation) and copulation	No. examined		No. of sperm-penetrated ova**							
					5 hours after copulation				6 hours after copulation			
					Second polar body				Second polar body			
			Rats*	Ova	Absent	Present	Total	% of sperm penetrated ova	Absent	Present	Total	% of sperm penetrated ova
No treatment		hrs. (2 1/2～4)	11/12	107	41/73	4/5	45/78	57.7	14/18	10/11	24/29	82.8
		(5～6)	11/11	116	29/59	14/14	43/73	58.9	7/17	26/26	33/43	76.7
		Total	22/23	223	70/132	18/19	88/151	58.3	21/35	36/37	57/72	79.2
Treatment for second polar body formation	Cold water (3－4℃)	1 1/2～3 (2 1/2～4)	10/14	102	4/9	34/62	38/71	53.5	1/2	21/29	22/31	71.0
	0.4% ravonal	1 3/4～3 (2 1/2～4)	10/15	95	9/22	25/45	34/67	50.7	4/7	14/21	18/28	64.3
	Cold shock (ice)	1～3 (2～4)	14/17	150	5/10	56/98	61/108	56.5	3/4	28/38	31/42	73.8
	0.85% NaCl	4～5 (5～6)	13/20	131	20/33	46/69	66/102	64.7	6/8	16/21	22/29	75.9
	Total		47/66	478	38/74	161/274	199/348	57.2	14/21	79/109	93/130	71.5
Total or Average			69/89	701	·	·	287/499	57.5	·	·	150/202	74.3

Remarks. * No. of rats which formed second polar body after treatment and which were fertilized / No. of rats examined.

** No. of sperm-penetrated ova/No. of ova examined.



Remarks. F : Ova without second polar body. S : Ova with secnd polar body.

Fig. B. Percentage of ova with second polar body among those derived from rats copulated after treatment for artificial induction of second polar body or with no previous treatment

個）となるが，冷却水処置では71%（31個のうち22個），0.4%ラボナール処置では64.3%(28個のうち18個)，冷刺戟では73.8%（42個のうち31個），0.85%食塩水では75.9%（29個のうち22個)でこれら処置したものの平均は71.5%（130個のうち93個）であって，処置，無処置の別による精子侵入率に著るしい差違はなかつた．そして交配後5時間における第2極体を有する卵子は，観察卵子に対し，無処置では12.6%(151個のうち19個）にすぎないが，冷却水処置では87.3%（71個のうち62個），0.4%ラボナール処置では67.2%（67個のうち45個），冷刺戟では90.7%（108個のうち98個），0.85%食塩水では64.7%（102個のうち66個)でこれら処置したものの平均は78.7%（348個のうち274個）であり，交配後6時間に至れば無処置の場合第2極体を有する卵子の比率は51.4%（72個のうち37個）に増大するが，処置したものでは冷却水の場合93.5%（31個のうち29個），0.4%ラボナールでは75%（28個のうち21個），冷刺戟では90.5%（42個のうち38個），0.85%食塩水の場合は72.4%（29個のうち21個）でこれらの平均は83.8%（130個のうち109個）であった．

またこれを精子侵入卵子についてみると交配後5時間では，無処置では20.5%（88個のうち18個)が第2極体を有するが，処置したものでは80.9%（199個のうち161個：冷却水では38個のうち34個すなわち89.5%；0.4%ラボナール処置では34個のうち25個すなわち73.5%；冷刺戟では61個のうち56個すなわち91.8%：0.85%食塩水では66個のうち46個すなわち69.7%）の卵子が第2極体を有する．交配後6時間に至れば，無処置では精子侵入卵子の63.2%（57個のうち36個）は第2極体を形成するに至るが，処置したものでは85%（93個のうち79個：冷却水では22個のうち21個すなわち95.5%；0.4%ラボナールでは18個のうち14個すなわち77.8%；冷刺戟では31個のうち28個すなわち90.3%：0.85%食塩水では22個のうち16個すなわち72.7%）で交配後の時間経過による第2極体保有卵子の増大がみられなかった．なお，無処置の場合第2極体を有する卵子の殆んどすべて（交配後5時間では19個のうち18個，6時間では37個のうち36個）が精子侵入卵子であるのに対し，処置したものでは交配後5時間では58.8%（274個の

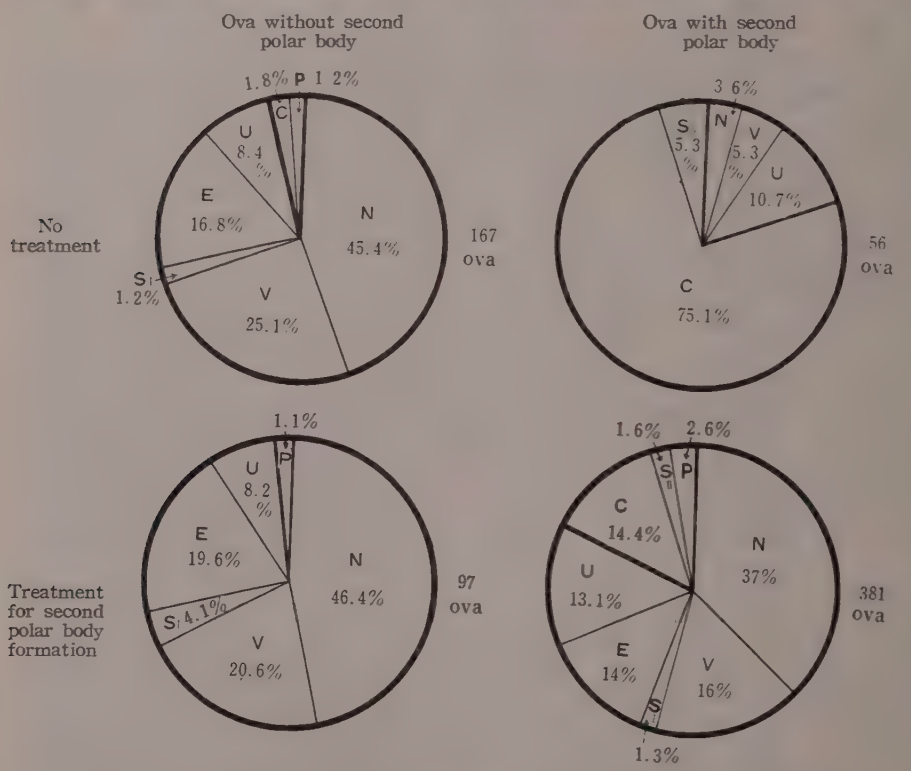
TABLE 10. Number of sperm-penetrated ova of rats copulated after induction of second polar body and location of spermatozoa in ova (observed 5 and 6 hours after copulation)

Treatment +	Interval between treatment (or ovulation) and copulation	No. examined		No. of ova with spermatozoa located at various sites																	
				Ova without second polar body									Ova with second polar body								
							In cytoplasm								In cytoplasm						
		Rats	Ova	Sperm absent	Sperm in zona or vitelline	Supplementary spermatozoa (I)	Sperm entering	Sperm head unchanged	Sperm head changed	Supplementary spermatozoa (II)	Polyspermy	Total	Sperm absent	Sperm in zona or vitelline	Supplementary spermatozoa (I)	Sperm entering	Sperm head unchanged	Sperm head changed	Supplementary spermatozoa (II)	Polyspermy	Total
No Treatment	$2\frac{1}{2}\sim4$ hrs	11/12	107	36	25	2	18	8	·	·	2 (1)**	91	2	1	·	·	1	10	2 (2)*	·	16
	$5\sim6$	11/11	116	40	17	·	10	6	3	·	·	76	·	2	·	·	5	32	1 (1)*	·	40
	Total	22/23	223	76	42	2	28	14	3	·	2 (1)**	167	2	3	·	·	6	42	3 (3)*	·	56
Treatments of second polar body formation: Cold water (3~4℃)	$1\frac{1}{2}\sim3$ ($2\frac{1}{2}\sim4$)	10/14	102	6	3	·	1	1	·	·	·	11	36	11	·	12	15	10	2	5 (2)**	91
0.4% ravonal	$1\frac{3}{4}\sim3$ ($2\frac{1}{2}\sim4$)	10/15	95	16	2	2	6	3	·	·	·	29	27	13	·	5	9	8	1	3 (2)**	66
Cold shock	$1\sim3$ ($2\sim4$)	14/17	150	6	3	·	4	·	·	·	1	14	52	25	3	20	13	21	1	1	136
0.85% NaCl	$4\sim5$ ($5\sim6$)	13/20	131	17	12	2	8	4	·	·	·	43	26	12	2	16	13	16	2	1	88
Total		47/66	478	45	20	4	19	8	·	·	1	97	141	61	5	53	50	55	6	10 (4)**	381
Totals		69/89	701	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·

Remarks. + Cold water, 0.4% ravonal, and cold shock: applied to oviducts. 0.85% NaCl: injected into the uterine horns.
++ No. of rats which formed second polar body after treatment and which were fertilized/No. of rats examined.
* No. of ova with one sperm in the cytoplasm and another sperm in the zona pellucida or perivitelline space.
** No. of sperm-penetrated ova in which the sperm head was changing.

うち161個)，交配後6時間では72.5%(109個のうち79個[illegible]，残りは第2極体を有するも精子無侵入の卵子であった．

さらに第10表及び第C図によって，精子の卵子内に侵入して，その前核と第2極体形成との関係をみると，対照の無処置のものでは223個のうち第2極体未形成のものは167個，第2極体を有するものは56個(25.1%)で，その80.4%に当る45個の卵子は精子頭部が卵原形質内で膨大変化しており，それ以前に至らざるものは11個(19.6%)にすぎない(第20～22図)．これに対し，冷却水処置のものでは102個のうち91個(89.2%)が第2極体を保有し，そのうちの79個(86.8%：無侵入，36個；透明帯及び卵周囲腔内侵入，11個；侵入中，12個；頭部不変化15個；多精子侵入Ⅱすなわち侵入した多精子のうち1精子のみが卵原形質内にあるもの及び多精子受精，すなわち2個以上の精子が卵原形質内にあるもの5個)，精子頭部が膨大変化する階梯に至らざるものであり，膨大変化したものは12個(13.2%)にすぎない．0.4%ラボナール処置では95個のうち66個(69.5%)が第2極体を有したが，そのうちの56個(84.8%；無侵入，27個；透明帯及び卵周囲腔内，13個；侵入中，5個；精子頭部不変化，9個；多精子侵入Ⅱ及び多精子



Remarks.

C : Sperm head changed in cytoplasm.
E : Sperm entering in cytoplasm.
N : Not penetrated by sperm.
P : Poly splermy.
S I : Supplementary spermatozoa.
U : Sperm head unchanged in cytoplasm.
S II : Supplementary spermatozoa and 1 sperm in cytoplasm.
V : Sperm in zona or vitelline.

Fig. C. Correlation between location of spermatozoa in ova and second polar body formation

受精2個）は精子頭部が膨大変化しておらず，精子頭部が膨大変化したものは10個（15.2%）にすぎなかった．また冷刺戟では150個のうち136個（90.7%）が第2極体を有し，そのうち115個（84.6%；無侵入52個；透明帯及び卵周囲腔内，25個；侵入中，20個；頭部不変化，13個；多精子侵入Ⅰすなわち2個以上の精子が透明帯または卵周囲腔内にあるもの，Ⅱ及び多精子受精，5個）は未だ精子頭部が膨大変化せず（第23図），膨大変化したものは21個（15.4%）であり，0.85%食塩水処置では131個のうち88個（67.2%）が第2極体を有し，そのうちの72個（81.8%；無侵入，26個；透明帯及び卵周囲腔内，12個；侵入中，16個；頭部不変化13個；多精子侵入Ⅰ，Ⅱ及び多精子受精5個）は未だ精子頭部が膨大変化するに至らざるものであり（第24図），膨大変化したものは16個（18.2%）であった．これらの第2極体誘起処置後交配した場合の計478卵子についてみると，97個（20.3%）は第2極体を有せざるものであり，381個（79.7%）が第2極体を有した．そして第2極体を有する卵子381個のうち精子頭部が卵原形質内で膨大変化したものは59個（15.5%；多精子受精の4個を含む）にすぎず，残りの322個（84.5%）はこのような状態に達しない種々の階梯にあったのである．

なお，交配後5時間と6時間において多精子によって侵入を受けた卵子は，無処置の場合223個のうち7個（3.1%）であり，そのうちの3個の卵子は1精子だけが卵原形質内にあり（多精子侵入Ⅱ），2個(0.9%)の卵子は2精子共卵原形質内にあった（多精子受精）．これに対し，処置したものでは478個のうち26個(5.4%；冷却水で7個，0.4%ラボナールで6個，冷刺戟で6個，0.85%食塩水で7個）で，そのうち6個の卵子は1精子だけが卵原形質内にあり（多精子侵入Ⅱ），11個（2.3%）の卵子は2個以上（冷却水処置の1卵子のみが3精子により）の精子が卵原形質内にあり（多精子受精），残りの9個は2精子共に透明帯または卵周囲腔内にあった（多精子侵入Ⅰ）．

ロ．前核形成

前記により，第2極体誘起処置により第2極体を形成した卵子もなお受精することを知ったが，その後前核形成に発展するか否かを冷却水処置後交配して検した．交配後9時間及び24時間における観察結果は第11～12表の通りであった．すなわち第11表によれば，無処置の場合は53卵子の77.4%に当る41個の卵子が雌雄の両前核を形成しており，精子無侵入の7個を含む8個(15.1%)は第2成熟分裂中期の状態に，残り3個（5.7%）は染色体の凝縮した状態にあり，1個の卵子は分散した染色体を有した．これに対し，冷却水処置後交配したものは95個の卵子のうち，雌雄両前核を形成したものは60個（63.2%；うち2個は二つの雄性前核を形成）であり（第25～26図），その他に雄性前核のみを形成したもの3個(3.2%)，雌性前核と膨大変化した精子頭部を有するもの6個（6.3%）があった．また第2成熟分裂中期の状態の卵子は4個(4.2%)，染色体の凝縮した状態の卵子は16個（16.8%；そのうち14個は精子無侵入），染色体の分散した卵子は9個（9.5%）であった．

次に交配後24時間における前核の状態を第12表によってみると，無処置の場合は49個のうち35個(71.4%)が前核を形成し，他の5個（10.2%）はさらにすすんで紡錘糸を有するものと2細胞期のものであった（第31図）．前核を有する卵子35個のうち23個（65.7%）は雌雄両前核が相接近した状態にあり，8個は融合した状態にある．また3個は1個の雌性前核と2個の雄性前核を有していた．冷却水処置の場合は第2極体形成後の前核形成であることを明確にするために，左側卵管は子宮への移行部で結紮し，右側卵管は無結紮で交配して観察した．すなわち左側の47個の卵子はすべて不受精卵子であり，そのうちの41個（1細胞期の卵子46個の89.1%）に第2極体が観察された．これに対し，結紮しない右側では54個の卵子のう

TABLE 11. Correlation between male and female elements during pronuclear stages of fertilization in ova of rats copulated after cold water treatment

Treatment	Interval between treatment (or ovulation) and copulation	No. of rats examined *	No. of sperm-penetrated ova 9 hours after copulation: Male elements / Female elements	Not penetrated	Sperm head in cytoplasm: Unchanged	Sperm head in cytoplasm: Changed	Pronucleus formed	Total
No treatment	hrs. $2\frac{1}{2}$ — 4	5/5	At metaphase	7		1		8
			With condensed chromosomes	1	1	1		3
			With scattered chromosomes			1		1
			Pronucleus formed				41	41
			Total	8	1	3	41	53
Cold water (3～4℃)	$1\frac{1}{2}$ — 3 $2\frac{1}{2}$ — 4	10/12	At metaphase	3	1			4
			With condensed chromosomes	12	2	2		16
			With scattered chromosomes	2	1	3	3	9
			Pronucleus formed			6	60 (2)**	66
			Total	17	4	11	63	95

Remarks. * No. of fertitized rats/No. of rats examined.

** No. of ova with 2 male pronuclei.

TABLE 12. Development of pronucleus in ova of rats copulated after cold water (3～4℃) treatment (24 hours after copulation)

Interval between treatment (or ovulation) and copulation	Treatment	Ligated at tube-uterine junction	No. examined: * Rats	No. examined: Ova	No. of ova: Unfertilized: 1-cell stage: Second polar body: Absent	Unfertilized: 1-cell stage: Second polar body: Present	Unfertilized: Degenerative cleaving ova	Unfertilized: Total	Fertilized: With pronuclei: Formed	Fertilized: With pronuclei: Approached	Fertilized: With pronuclei: Syngamy	Fertilized: With pronuclei: 2 or 3 male	Fertilized: With spindle	Fertilized: 2-cell stage	Fertilized: Total
hrs. $1\frac{1}{2}$ — 3	No treatment	Both sides not ligated	5/5	49	6	1	2	9	1	23	8	3	3	2	40
$\left(2\frac{1}{2}\text{—}4\right)$	Cold water (3～4℃)	Left : ligated	10/13	47	5	41	1	47							0
		Right : not ligated		54	2	11	3	16	3	22	6	5	1	1	38

Remarks. * No of fertilized rats/No. of rats examined.

ち，16個は不受精であり，そのうちの11個は第2極体を有し，3個は退化型の分割を行なって，る．残りの38個（70.4%）は受精卵子でそのうち2個は精糸を有するものと2細胞期のものであり（第30図），残りの

36個は両前核の形成を行なっている．前核を有する36個のうち22個（61%）は雌雄の両前核が接近した状態にあり（第27図），6個はすでに融合し（第28図），5個は1個の雌性前核と2個の雄性前核を有した（第29図）．

さらに冷却水（3～4℃）処置では処置後$1\frac{1}{2}$時間で第2極体を形成せしめるので（第3表），第2極体形成後速やかに受精を遂げしめるために交配後$\frac{3}{4}$～$1\frac{1}{2}$時間でこの処置を行なった結果は第13表の通りであった．すなわち対照の無処置の場合の精子侵入率は，交配後3時間ではすべての卵子が無侵入であり，4時間では24%（99個のうち24個）である．第2極体を有したものは僅か5個でそのうちの2個だけが精子侵入卵子であった．このことから，交配後$1\frac{1}{2}$時間以内に冷却水処置を行なえば，第2極体形成後精子侵入を行なわしめることが可能であるが，さらに同一個体を用いて検した．すなわち，交配後冷却水処置したラットの左側卵管を交配後3時間（処置後$1\frac{1}{2}$～$2\frac{1}{4}$時間）で切り取って観察すれば，51個のうち47個

TABLE 13. Early stages and pronuclear stages of fertilization in ova of rats copulated before cold water treament(observed 3, 4, or 24 hours after copulation)

Interval between ovulation and copulation (hrs.)	Treatment	Sides of oviduct	Interval between copulation (or treatment) and observation	No. examined		No. of unfretilized ova				No. of fertilized ova at various stages in fertilization									
										Early stage			Pronuclear and 2-cell stage						
				Rats	Ova	Second polar body Absent	Second polar body Present	Cleaving	Total	Second polar body Absent	Second polar body Present	Total	Pronuclei formed	Pronuclei approached	At syngamy	With multinuclei	With spindle	2-cell stage	Total
1～2	No treatment	Both	3	10	112	111	1		112										
		Both	4	10	99	72	3		75	22	2	24 (24.2)*							
2	Cold water (3–4℃)	Left	3 ($1\frac{1}{2}$～$2\frac{1}{4}$)	10	51	4	47		51										
2		Right	24 ($22\frac{1}{2}$～$23\frac{1}{4}$)	12	52	1	11	6	18				3 (1) **	12	9	3	3	4	34

Remarks. * Perentage of sperm-penetrated ova.

** Ovum with only male pronucleus.

(92%)の卵子はすでに処置により第2極体を形成しているが，いずれも精子侵入はみられない．これに対し，右側卵管から交配後24時間（処置後$22\frac{1}{2}$～$23\frac{1}{4}$時間）で卵子を得て検すると，52個のうち27個（52%）は前核を形成し，さらにすすんだものは紡錘糸を有するもの（3個）と2細胞期（4個）に達していた．前核を形成したもののうち，両前核の接近した状態のものは12個，すでに融合したものは9個であり，2個の雄性前核を有するは3個であった．

B. 受精後の卵子の分割

第2極体を人工的に形成せしめた卵子も受精し，前核形成を行ない，前核は発育し得ることは前記の如くであるが，さらにこのような卵子が分割して発育するか否かを検するために，冷却水の処置後交配を行なって48時間後，72時間後，96時間後に観察した．また第13表の結果よりして，交配後$\frac{3}{4}$～$1\frac{1}{2}$時間で冷

却水の処置を行なっても，第2極体の形成が精子侵入に優先することは明らかであるので，この方法によって96時間後の卵子についても併せて観察した．なお，受精した分割卵子は未受精の分割卵子，特にPseudo-normal ovumとの誤認をさけるために，位相差顕微鏡下において，分割球が概ね均等で卵内容が充実して存し（但し奇数の分割球の場合は若干の考慮をした），しかも核の状態の正常なるものをもって判定した．さらに交配後48時間では2細胞期以上，72時間では4細胞期以上，96時間では桑実期以上の卵子を正常発育卵子とみなした．その結果は第14表及び第D図の通りであって，交配後48時間における無処置の場合の受精卵子は49個のうち42個（85.7%），正常発育卵子は41個（83.7%）で，その大部分に当る30個(71%)は2細胞期にあり，3細胞期と4細胞期のものは計11個（26.2%）であった．これに対し，冷却水の処置後交配したものでは101卵子のうち73個（72.3%）が受精し，正常発育卵子は65個（64.4%）であり，48個（受精卵子の65.8%）は2細胞期（第32～33図）に，17個（23.3%）は3及び4細胞期にあった．また無処置では受精卵子42個のうち29個（69%）の卵子に，冷却水処置では73個のうち49個（67%）の卵子の内部に精子尾部が観察された．

TABLE 14. Cleavege stages of fertilized ova in rats copulated before or after cold water (3～4℃) treatment

Interval between Treatment (or ovulation) and copulation	Interval between Copulation and treatment	Hours after copulation **	Treatment	No.** examined: Rats	No.** examined: Ova	No. of ova at various stages*: Unfertilized ova	Fertilized ova: 1-cell stage	Normally developing ova: 2-cell stage	3-cell stage	4-cell stage	5-cell stage	6-cell stage	8-cell stage	16-cell stage	Morula stage	Blastula stage	Total: Fertilized ova: No. of ova	Fertilized ova: %	Normally developing ova: No. of ova	Normally developing ova: %
hrs.	hrs.	hrs.																		
		* 1) 48	No treatment	5/6	49	7	1 (1)	30 (21)	8 (5)	3 (2)							42 (29)	85.7	41	83.7
			Cold water	10/13	101	28	8 (5)	48 (33)	8 (4)	9 (7)							73 (49)	72.3	65	64.4
1 1/2		* 2) 72	No treatment	7/7	64	11 (6)			1 (1)	39 (31)	2 (2)	6 (4)	5 (4)				53 (42)	82.8	52	81.2
— 3			Cold water	10/12	97	30 (15)		15 (8)	9 (3)	37 (18)	3 (1)	3 (1)					67 (33)	69.1	43	44.3
(2 1/2			No treatment	12/13	127	16								1	12	98	111	87.4	110	86.6
— 4)		* 3) 96	Cold water	20/23 (14)	199 (141)	59 (35)		13 (7)	5 (3)	29 (20)	4 (2)	14 (10)	21 (16)	9 (3)	3 (3)	42 (42)	140 (106)	70.4 (75.2)	45 (45)	22.6 (31.9)
(1/2 — 2 1/2)	3/4 — 1 1/2	* 3) 96	Cold water	10/12	98	24		7	7	8		1	8	5	8	30	74	75.5	38	38.8
				(8)	(81)	(18)		(3)	(3)	(7)			(7)	(5)	(8)	(30)	(63)	(77.8)	(38)	(46.9)

Remarks. * The figures in parentheses indicate :

1) No. of ova with sperm tail.

2) No. of uterine ova.

3) No. or % of ova in rats possessed the normally developing ova.

** No. of fertilized rats / No. of rats examined.

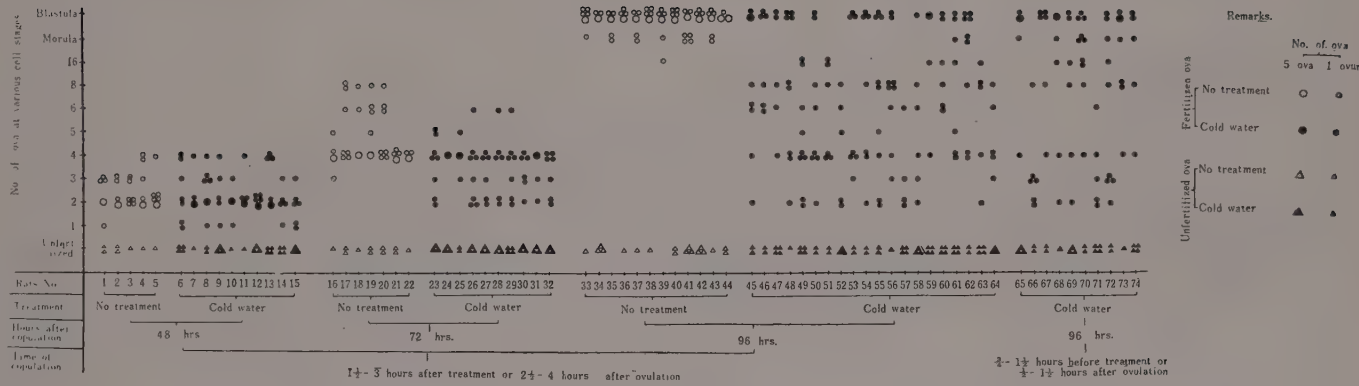


Fig. D Cleavage stges of fertilized ova in rats copulated before or after cold water (3 — 4 ℃) treatment

交配後72時間に至れば，無処置の場合の受精卵子は64個のうち53個（82.8%），正常発育卵子は52個（81.2%）で，受精卵子の73.6%に当る39個の卵子は4細胞期にあるが，さらにすすんだものは5～8細胞期にあり，その数は13個（受精卵子の24.5%）に及んでいる．これに対し，冷却水処置後交配したものでは97個のうち受精卵子は67個（69.1%），正常発育卵子は43個（44.3%）であり，そのうちの37個（受精卵子の55.2%）は分割して4細胞期に達し（第34図），最高は5～6細胞期（6個）にあったのである．しかしなおも24個（受精卵子の35.8%）は2～3細胞期にあり，無処置のものに比し相当な発育の中止や遅滞を示した．またこの時期の卵子のうち，無処置では観察卵子64個の75%に当る48個（受精卵子では53個のうち42個すなわち79%），冷却水処置のものでは観察卵子97個の約50%に当る48個（受精卵子では67個のうち33個すなわち49%）は子宮内から得られたものである．

さらに交配後96時間に至れば，無処置では127個のうち111個（87.4%）が受精卵子で，1個を除くすべての卵子は正常に発育して桑実期（12個；受精卵子の10.8%）及び胚胞期（98個；受精卵子の88.3%）にまで達するが，冷却水処置後交配したものでは199個のうち140個（70.4%）が受精した分割卵子であるにもかかわらず，正常発育卵子は観察卵子の22.6%（45個；桑実期のもの3個と胚胞期のもの42個）にすぎず，残りは2～16細胞期にあったのである（第35～36図）．なお，これを正常発育卵子の得られた14個体（70%）のみについてみると，受精卵子は75.2%（141個のうち106個），正常発育卵子は31.9%（141個のうち45個）である．また交配後冷却水処置を行なって，第2極体が形成された後に精子侵入を行なわしめたものでは受精卵子は98個のうち74個（75.5%）であり，正常発育卵子は38個（38.8%；桑実期8個；胚胞期30個）であった．これを正常発育卵子の得られた8個体のみについてみると受精卵子は77.8%（81個のうち63個），正常発育卵子は46.9%（81個のうち8個）である．

C. 胎児の発育と出産

前記により，第2極体形成後の卵子も受精を遂げ，分割過程に入り，そのうちの若干は胚胞期にまで達することを知り得るが，このような卵子が果して子宮に着床して胎児にまで発育し，さらに出産に至るか否かを検して次のような事実を知り得た．

イ 胎児の発育

胎児の発育は卵子が子宮に着床して，大凡大の腫瘤となる妊娠の第8～10日において，動物を屠殺開腹してしらべて第15表及び第E図の結果を得た．すなわち，無処置の場合は15匹中14匹に着床がみられ，着床胎児の総数は127個で親1匹当りの平均着床数は9.1個（4～13個）であったのに対し，冷却水の処置後1 1/2～3時間で交配したものでは，35匹中22匹に着床がみられ，着床胎児の総数は69個で親1匹当り3.1個（1～7個）であった（第37図）．ラボナールの処置後交配したものでは，0.3%液の場合は15匹中9匹に着床がみられ，着床胎児の総数は56個で，親1匹当り6.2個（2～11個），0.4%液では23匹中14匹に着床し，着床胎児の総数は75個で，親1匹当り5.4個（1～10個）であった．また交配後3/4～1 1/2時間で冷却水処置を行なったものでは，20匹中17匹に着床がみられ，着床胎児の総数は60個，親1匹当りの平均着床数は3.5個（1～8個）であった．

ロ 出 産

着床した胎児が出産に至るか否かを検した結果は第16表及び第E図の通りである．すなわち，無処置の自然交配（雄と同居せしめ自由に発情期に交尾せしめたもの）では59匹中55匹が出産し，産仔の総数は599（雄293匹，雌306匹）で，親1匹当りの産仔数は10.9匹（6～16匹）であるが，冷却水2 1/2～4

TABLE 15. No. of embryos in rats copulated before or after treatment for second bpolar body formation (obsoerved on 8th to 10th days of pregnancy)

Treametnt	Interval between		No. of rats examined			No. of embryos					
	Treatment (or ovulation) and copulation	Copulation and treatment	Total	With no implanted ova	With implanted ova	Total			Per female		
						Left uterine horn	Right uterine horn	Total	Max.	Min.	Average
	hrs	hrs									
No treatment	(2 1/2 ~ 4)	—	15	1	14	60	67	127	13	4	9.1
Cold water (3 ~ 4℃)	1 1/2 ~ 3 (2 1/2 ~ 4)	—	35	13	22	32	37	69	7	1	3.1
0.3% ravonal	1 3/4 ~ 3 (2 1/2 ~ 4)	—	15	6	9	30	26	56	11	2	6.2
0.4% ravonal	1 3/4 ~ 3) (2 1/2 ~ 4)	—	23	9	14	36	39	75	10	1	5.4
Cold water (3 ~ 4℃)	(1/2 ~ 1 1/2)	3/4 - 1 1/2	20	3	17	33	27	60	8	1	3.5

TABLE 16. Number of young in rats copulated before or after treatment for second polar body formation

Treatment	Interval between		No. of rats examined			No. of young						Average body weight per young (g)
	Treatment (or ovulation) and coplautin	Copulation and treatment	Total	No partuition	Gave birth	Total			Per female			
						Female	Male	Total	Max.	Min.	Average	
	hrs.											
No treatment	(Before ovulation)	—	59	4	55	293	306	599	16	6	10.9	6.1
	(2 1/2 ~ 4)	—	35	4	31	135	109	244	14	2	7.9	6.0
Cold water (3 — 4℃)	1 1/2 ~ 3 (2 1/2 ~ 4)	—	20	8	12	18	21	39	8	1	3.3	5.9
0.4% ravonal	1 3/4 ~ 3) (2 1/2 ~ 4)	—	15	5	10	24	29	53	8	2	5.3	6.0
Cold shock (ice)	1 ~ 3 (2 ~ 4)	—	10	6	4	3	5	8	3	1	2.0	6.3
Cold water (3 ~ 4℃)	(1/2 - 1 1/2)	3/4 - 1 1/2	15	3	12	21	22	43	6	1	3.6	6.2

時間の交配では35匹中31匹が出産し，産仔の総数は244匹（雌135匹，雄109匹）で，その平均産仔数は7.9匹（2～14匹）であった．冷却水処置後1～3時間（排卵後2 1/2～4時間）に交配したものでは，20

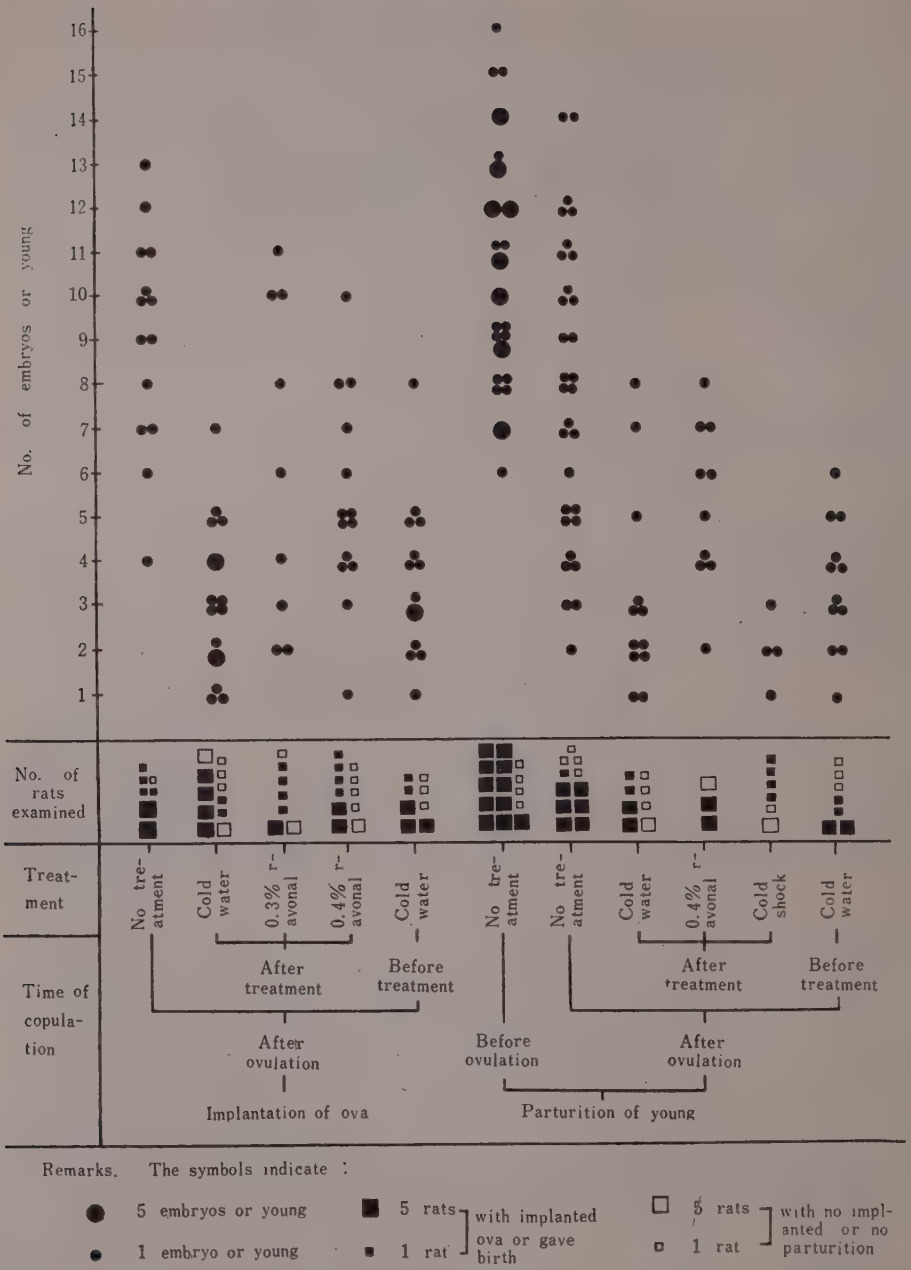


Fig. E Number of embryos or young in rats copulated before or after various types of treatment for arificial induction of second polar body

匹中12匹が無事出産に至り，その産仔の総数は39匹（雌18匹，雄21匹）で平均産仔数は3.3匹（1～8匹）であった（第38図）．0.4%ラボナール処置では15匹中10匹が出産し，産仔の総数は53匹（雌24匹，雄29匹）で，平均産仔数は5.3匹（2～8匹）であり，冷刺戟の処置では10匹中4匹が出産したが．その平均産仔数は2匹（1～3匹）であった．また交配後$^{3}/_{4}$～$1\,^{1}/_{2}$時間で冷却水処置を行なったものでは15匹中12匹が出産に至り．産仔の総数は43匹（雌21匹，雄22匹），平均産仔数は3.6匹（1～6匹）であって．処置後交配した場合に比し出産に至ったラット数に若干の増大がみられた．

D. 考 察

イ 第2極体形成後の受精

哺乳動物のうち，犬では第1卵母細胞の階梯において受精されるが，侵入した精子は第2極体形成後まで殆んど変化せず[11]，狐も排卵時第1極体を保有しない[77]からほぼ同様と考えられる．その他の動物の卵子にあっては，受精は第1極体を形成し，第2成熟分裂中期の階梯においてである．またラット[62]，及び家兎[34]の第1卵母細胞の受精と発育は第1極体の形成に引続いて行なわれる．

正常交配において精子侵入のみられるのは，ラットにおいては早きは排卵後1時間，90%の卵子に観察されるのは排卵後3時間[66]，或いは排卵後2～4時間[15]と報告されている．またこのことは家兎でもほぼ同様であって，早きは排卵後$1\,^{1}/_{2}$～2時間であり，全卵子は約3時間で侵入されるが[73]，ハムスターではやや遅く排卵後5～6時間である[41]．しかるに排卵時または排卵後の交配においてはさらに精子侵入に時間を要し，家兎では交配後約5時間[27]，マウスでは平均5時間[27]または6～10時間[83]と称され，ラットでは交配後2時間までは精子によって侵入された卵子はなく，$2\,^{1}/_{2}$時間で4～6.6%，3時間で20.5～28%，$3\,^{1}/_{2}$時間で53.4%，5時間で67～73%であり，89～100%の精子侵入は交配後7時間でみられる[15]．

筆者の排卵後の交配における結果（第9及び13表）は，交配後3時間では精子侵入卵子はなく，4時間で24.2%，5時間で平均58.3%（57.7～58.9%），6時間で平均79.2%(76.7～82.8%）の精子侵入率であり，AUSTIN & BRADEN[15]の成績より僅かに低かった．

また第2極体の形成は，家兎では精子侵入後45分～1時間（正常交配後12時間または排卵後2時間）と推測され[73,91]，ラットでも精子侵入後1時間または早いもので排卵後4時間の終りにみられるが，この時期は精子頭部が卵原形質内に入り，膨大変化する時期であって[24,66]，かかる第2極体の形成の時期と精子頭部の膨大変化する時期との関連は，未成熟ラットの受精の場合ホルモンにより排卵を誘起して交配せしめても成熟ラットの場合と同様である[5,16]．

筆者の観察では，第2極体を形成している卵子は，交配後5時間において観察卵子の12.6%，精子侵入卵子の20.5%であり，6時間では観察卵子の51.4%，精子侵入卵子の63.2%であった（第9表及び第B図）．この傾向はODOR & BLANDAU[66]の見解とほぼ一致する．さらに精子侵入と第2極体形成との関係をみるに(第10表及び第C図)，第2極体を有する卵子の80.4%（56個のうち45個）は精子頭部がすでに膨大変化しており，諸氏の報告[5,16,24,66]同様，精子頭部の膨大変化する時期と第2極体形成との間に相当密接な関連を有することを知った．しかしながら若干の例外も存在した．たとえば無侵入の2個は自然に第2極体を形成したものであり，透明帯及び卵周囲腔内に精子のみられる卵子は自然に，または何らかの原因により第2極体形成後に精子侵入の行なわれたものであろうと推測される．また第2極体未形成であるにもかかわらず精子頭部の膨大変化している3個，及び反対に第2極体を形成するも頭部不変化の6個（10.7%）を見出した．これらの原因が深辺にあるか明らかでないが，何らかの刺戟があれば第2極体の形成が行なわれること

を考えるとき，精子侵入の刺戟と卵子の第2極体の形成の反応の間に若干のずれがあったと考えられぬであろうか．すなわち精子頭部の膨大変化が第2極体形成の要因ではなくて，大部分の卵子においては原則的にこの二つの現象が時間的に一致するものであると考えたい．

人工的に第2極体を形成せしめた卵子が受精し得るや否やは，第2極体形成の意義とも関連して受精生理学上極めて興味ある問題である．THIBAULT[87]は人工的に活性化された卵子に精子侵入は不可能であろうと推測したが，かかる推測は何らかの実験に基づいてなされたものではなく，恐らくは第2極体の形成後には，海産動物の受精膜形成のような精子侵入に対する防禦機構の確立がなされるとの想定に基づいたものであろう．しかるにAUSTIN & BRADEN[16]はエーテル麻酔及び冷刺戟では処置後1～1 1/2時間で，その他の麻酔の場合でも遅くとも2時間以内に第2極体が形成されること，及び少くとも交配後2時間は精子侵入のみられぬ事実に基づき，交配後第2極体の誘起処置を行なって，精子侵入の可能なことを確めた．しかしながら，彼の用いたエーテル麻酔の第2極体形成作用は筆者の成績（第2表）からすれば疑わしいのであり，ナイトラスオキサイドも同様の疑問があり，しかもかかる間接的方法によって冷刺戟の場合同様に処置後1～1 1/2時間で第2極体を形成せしめるという点にも若干の疑義を有する．故に彼の実験は証明の方法において不充分であるといわねばならない．しかもその結果は，ナイトラスオキサイド30分間麻酔処置の場合において，精子侵入卵子が81%（58個のうち47個）に及んでいるとはいえ，エーテル麻酔では46%，冷刺戟では40%程度にすぎないのであって，無処置の場合の90%に比較して一般に低率であり，第2極体の形成が精子侵入に何らかの影響を与えるかの感を抱かせるのである．

そこで筆者はまず各種処置後第2極体の形成に要する時間を明確にし（第2～4表），次に第2極体を形成したと考えられる時間以後に交配し，交配後5～6時間において精子侵入の行なわれるか否かを確めた．この時間は精子侵入によって未だ第2極体の形成されることの比較的少ない時間である．その結果は第9表に示すように，処置後交配したものの精子侵入率は交配後5時間では平均57.2%（処置別に50.7～64.7%），6時間では平均71.5%（処置別に64.3～75.9%）であって，無処置の交配後5時間で58.3%，6時間で79.2%の精子侵入率に比較して著るしい差違はなかったのである．しかも交配後5時間よりも6時間において精子侵入率の増加している事実は，この時期にもなお精子侵入が続行されつつあることを示すものといえよう．

次に第2極体を形成した卵子の比率は（第9表及び第B図），処置した場合の交配後5時間では観察卵子の平均78.7%（348個のうち274個；処置別に67.2～90.7%），精子侵入卵子の80.9%（199個のうち161個；処置別に69.7～91.8%）であり，交配後6時間では観察卵子の83.8%（130個のうち109個；処置別に72.4～93.5%），精子侵入卵子の85%（93個のうち79個；処置別に72.7～95.5%）であった．すなわち観察卵子，及び精子侵入卵子のいずれについてみるも，交配後5時間と6時間の間に著るしい差がなかった．これに対し，無処置の場合の第2極体保有卵子の割合は，交配後5時間では観察卵子の12.6%，精子侵入卵子の20.5%であり，6時間では観察卵子の51.4%，精子侵入卵子の63.2%である．すなわち，無処置では交配後5時間では第2極体を形成する卵子は少なく，6時間に至れば相当の増加をみているのである．なお，無処置では第2極体を有する卵子の始んどすべて（交配後5時間では19個のうち18個，6時間では37個のうち36個）に精子侵入が観察されたが，処置したものでは精子侵入をみないにもかかわらず第2極体を有する卵子が相当数存在する．すなわち交配後5時間で41.2%（274個のうち113個），6時間で27.5%（109個のうち30卵子）の卵子は精子無侵入であるにもかかわらず第2極体を保有しているのである．こ

れらの結果は無処置では精子侵入に伴って第2極体の形成がみられるに対し，処置したものでは大部分の卵子は精子侵入と無関係に第2極体を形成し，その後精子侵入が行なわれたことを物語るものである．

さらに精子侵入及び精子侵入後の変化を第10表及び第C図によってみると，無処置では第2極体を有する卵子56個（観察卵子の25.1%）の80.4%に当る45個は精子頭部が膨大変化した階梯のものであるが，処置したものでは第2極体を有する卵子381個（観察卵子の79.7%）の15.5%に当る59個が精子頭部が膨大変化しているにすぎず，残りは精子無侵入の141個（36.8%）及び精子頭部が膨大変化する階梯に至らざる精子侵入の種々の階梯のもの181個（47.5%）であった．すなわち，無処置では第2極体形成の時期と精子頭部が卵原形質内に入り膨大変化する時期とが密接な時期的一致をみるのに対し，処置したものでは無関係であることを示すのである．

以上種々の面から検討した結果，筆者は第2極体形成後の卵子にも精子は侵入し得るものと考える．そして筆者の結果から推測するとき，AUSTIN & BRADEN[16]の冷刺戟やエーテル麻酔における精子侵入卵子の比率の低下の原因が奈辺にあるか明らかでないが，恐らくは交配後においてかかる処置を行なったがために，精子の運動機能や生存に対して悪影響を与えたのも一因ではないかと推測される．このことは彼自身が，その後[8]排卵前後に寒冷感作を与えた場合に精子侵入率の低下を報じていることからみても推測に難くない．

次に多精子侵入（Supplementary spermatozoa）についてであるが，筆者は排卵後の交配の5時間と6時間後において，無処置の場合の多精子侵入卵子は3.1%（223個のうち7個），多精子受精(Poly spermy)は0.9%（2個）であり，処置したものでは多精子侵入卵子は5.4%（478個のうち26個），多精子受精卵子は2.3%（11個）であった．なお冷却水処置の1卵子のみが3精子による受精であり，残りはいずれも2精子侵入である．この結果は，処置したものにおいて僅かに無処置のものより多精子侵入の機会が多いやに見受けられるが，従来の諸氏の報告とは多少趣きを異にするものである．すなわち，正常交配における多精子侵入の機会はラットでは22.5%[14]，23%或いは10.2～16.7%[65,67]といわれ，多精子受精のおこる機会はラットでは0.3%[67]，1.9～2.2%[6]，或いは1.5%[14]であり，マウスでは0.3%[27]または1.2%[29]，家兎では1.4%[14]，猫では3%[89]，フエレットでは1.4%[57]，ハムスターでは1.4%[19]，もぐらでは2%[10]と報告されている．しかしながら排卵後の交配や種々の処置を行なった場合にはかかる機会は増大するようである．すなわち，排卵後の交配によるラットの多精子侵入は30.4%[14]，または18.3%[67]，多精子受精は9.2%[14]，または3.3%[67]であり，家兎でも7%または16.4%[13～14]で同様の傾向にある．さらにラット卵子に熱刺戟を与えると16%[67]であり，排卵前または排卵後高温を与えると[6,8]多精子侵入28～31%，多精子受精19.8～21.2%であるが，170～200gの大きいラットに処置すればさらに増大し，多精子侵入41%，多精子受精34%となることが報告され，マウス[27]でも熱刺戟の処置は対照の0.3%に対し3.8%で，多精子受精卵子の増大をみている．

これらの報告に対し，上記の筆者の成績は処置したものにおいて無処置のものより若干の増大をみているとしても，特に著るしい増加を示さぬものであり，かつその比率においては諸報告の正常交配に近いものであった．しかしながら，この筆者の結果は精子侵入の進行中ともいうべき交配後5時間と6時間におけるものであるので，時間の経過と共に今少し増大するのであるかもしれない．

上記の筆者の結果からすれば，多精子侵入に対する防禦機構の確立は，原則的には第2極体の形成によってなされるものではなく，精子侵入後に成立するものであることが推測される．そしてまた，処置によって

特に顕著な多精子侵入の増大をみない筆者の結果からすれば，適当な第2極体誘起処置が，透明帯の働きや多精子侵入への防禦機構の成立を，何らかの形で破壊若しくは著るしく低下させることもないであろうと推測される．

ロ　受精後の前核形成

AUSTIN & BRADEN[16] は交配後第2極体誘起処置を行ない，精子侵入卵子の相当な低下をみたのは前述の通りであるが，前核形成に至ったものの比率はさらに低かったことを報じている．すなわち，精子侵入卵子に対し，エーテル麻酔では33%（91個のうち30個；観察卵子196個の15.3%），冷刺戟では48%（52個のうち25個；観察卵子130個の19%），ナイトラスオキサイドでは49%（47個のうち23個；観察卵子58個の40%）に前核形成をみとめ，この中には雌雄いずれか一方のみのもの，或いは副核を有するもの等が数個存在し，残りは分割しているか，または受精の他の階梯(詳細な記載はない)にあったと称している．この結果は第2極体を誘起した卵子は，精子侵入不可能卵子を多く生じ，精子侵入卵子においても完全な雌雄両前核を形成するには何らかの支障を来すかの感を与えるものである．

しかしながら，筆者の成績は多少その趣きを異にしている．すなわち，冷却水処置では$1\frac{1}{2}$時間以後に始んどすべての卵子に第2極体の形成をみるが，その後交配を行なって9時間後の観察によれば(第11表)，95卵子の63%に当る60卵子(精子侵入卵子78個の76.9%)が雌雄の両前核を形成し，他に雄性前核のみのもの3個，雌性前核と膨大変化した精子頭部とを有するもの6個を数えている．これに対し無処置では53卵子の77.4%に当る41卵子（精子侵入卵子45個の91%）が両前核を形成している．さらに交配後24時間の観察（第12表）では，冷却水処置の場合54卵子の66.7%に当る36個の卵子が前核を形成し，他の2個は紡錘糸を有するものと2細胞期のものであり，無処置の場合は49個の71%に当る35個が前核を形成し，他に紡錘糸を有するもの及び2細胞期のものは合せて5個（10%）であった．また第2極体形成後速やかに受精を遂げしめるために，交配後冷却水処置を行なったものでは52個の65.4%に当る34個が前核形成，紡錘糸を有するもの及び2細胞期のものであった．これらの結果は冷却水処置の場合の前核形成した卵子の割合が無処置に比して僅かに低いが，その原因が第2極体形成後の受精にあるか否かは現在のところ明らかでない．しかしながら処置したものでは染色体の四散したもの，不受精のものがやや多いことからみて，処置の悪影響を蒙る卵子の存在に主要な原因があろうと推測される．

さらに交配後24時間における前核の状態をみるに，無処置，及び冷却水処置後交配した場合の卵子は共に形成した前核が発育し，その多くは両前核の相接近した状態にあり，すすんだものは融合しており，さらにすすんだものは分割したものまでみられる．すなわち冷却水処置のものでは受精卵子38個のうち22個(58%)，無処置では40個のうち23個(57.5%)は両前核が相接近した状態にあり，融合したものは冷却水処置で6個，無処置で8個を数え，交配後冷却水処置したものでは受精卵子34個のうち12個(35%)が両前核が接近し，9個（26.5%）はすでに融合している．なお，2精子受精により，1個の雌性前核と2個の雄性前核を形成した卵子が，無処置で3個，冷却水処置後交配したもので5個，交配後冷却水処置したもので3個みられたか（第29図），このことは多精子受精が前核の形成と発育に対して著るしい障害とならぬことを示すものであり，さらにかかる卵子は分割へすすむことも可能[13]であろうが，結局はLAM[54], WILSON,[90], HARTMAN[43]の考えるように着床や出産には至らずして退化する運命にあるものと推測される．

以上のような冷却水処置を行なったものの前核の形成と発育は，若干の例外の卵子を含むとしても，その多くは第2極体形成後の受精に基づくものであると考えられる．なぜなれば，処置後交配した卵管無結紮(有

側）の精子無侵入の卵子13個(他の3個は退化型の分割卵子）のうち11個（84.6%)に，結紮した側(左側)から得た46個のうち41個(89%)に第2極体を認めており，また交配後冷却水処置した場合（第13表）において，精子侵入の未だ行なわれない交配後3時間の左側卵管内卵子では51個のうち47個（92%）に第2極体の形成を観察しているからである．

以上の筆者の結果から，ひるがえって AUSTIN & BRADEN[16]の称するところをかえりみるに，受精卵子及び前核形成卵子の割合は相当低率であり，しかも彼等が用いたエーテル麻酔，ナイトラスオキサイド麻酔では第2極体誘起処置としての効果ならびに第2極体の形成が精子侵入に先んずるかどうかという点において若干の疑問があり，最も確実と考えられる冷刺戟の処置（彼等は1分間卵管へ適用する）は筆者の成績（第7表）では早期に染色体の分散を来すので，筆者の場合よりも若干時間早く精子侵入が行なわれるとはいえ，その成績が不良であったのは当然であろう．従ってその証明は不充分であると考えられる．筆者は第2極体形成後の卵子の細胞学的状態を明らかにし（第7表及び第A図），第2極体形成に至る時間的関係を明らかにし，その後の時期に主として交配し，交配後処置したものでは，第2極体形成後の精子侵入であることを明確にして（第13表)これを検討した．故に第2極体形成後の卵子であっても，その誘起処置が適当であり，染色体が凝縮した状態で受精が行なわれれば，前核の形成と発育をなし得ると考えられる．

なお，ラット卵子の前核形成の時期は，正常交配においては排卵後5～8時間[66]，或いは精子侵入後3～4時間[15]といわれ，また in vitro の観察では第2極体形成後1時間余[4]の時期と称されており，さらに交配後8～10時間で前核の形成を行ない．19時間以後において両前核が融合すると報告[24]されている．筆者の結果（第11～13表）では交配後9時間で大部分の卵子に前核の形成をみ，24時間では多くの卵子に前核の接近がみられ，すでに融合したものも相当数存する．この筆者の結果は，正常交配時よりも排卵後の交配においては，精子侵入の時期が若干時間遅れることを考慮するとき，前記諸氏の報告[4,15,24,66]とほぼ一致すると言い得よう．

ハ　受精後の卵子の分割

冷却水処置により第2極体を誘起した後の卵子も受精し，前核を形成して，さらに分割過程へすすむことをたしかめたが，無処置の場合に比し，受精卵子の割合がやや低下すると同時に，時間の経過に伴って生ずる分割の速度遅滞，もしくは中止を行なうものが生じ，その結果として正常発育卵子の割合の相当な低下を示した．すなわち，第14表に示すように，排卵後の交配における受精卵子の割合は，無処置においては交配後48時間のもので85.7%，72時間では82.8%，96時間では87.4%であるのに対し，冷却水処置後交配したものでは，交配後48時間で72.3%，72時間で69.1%，96時間で70.4%，交配後処置した場合の96時間では75.5%であって，無処置のものより若干低い．さらに無処置の場合は受精卵子の殆んどすべてが正常発育卵子であるのに対し，冷却水処置後交配したものでは，交配後48時間では64.4%，72時間では44.3%，96時間では22.6%（正常発育卵子の得られた14個体では31.9%)，交配後冷却水処置をした96時間のものでは38.8%（正常発育卵子の得られた8個体では46.9%）が正常発育卵子であって，交配後の時間の経過と共に発育の遅滞もしくは中止を来すものが増加した．

さらに交配後の経過時間に伴う受精卵子の分割の状態をみるに，交配後48時間では無処置，冷却水処置共に1～4細胞期にあり，そのうちの無処置では71%，冷却水処置では65.8%の卵子は2細胞期にある．すなわち処置と無処置の間に殆んど差が認められない．72時間では無処置では3～8細胞期にすすみ，そのうちの73.6%は4細胞期に，24.5%は5～8細胞期にあるのに対し，冷却水処置のものでは2～6細胞期に

あり，そのうちの55.2%が4細胞期に，9%が5～6細胞期に，残りの35.8%の卵子は2～3細胞期にあって，発育のすすんだ卵子の比率が低く，かつ発育の遅滞もしくは中止した卵子が多かった．さらに96時間に至れば無処置では1個が16細胞期にあるほかは，受精卵子のすべてが桑実期（11%）と胚胞期(88.3%)に達しているのに対し，冷却水処置後交配したものでは受精卵子の2.1%が桑実期，30%が胚胞期に達したのみで，残りの67.9%は2～16細胞期にあったのである．これを正常発育卵子の得られた個体のみについてみると，42.4%が桑実期及び胚胞期に達し，残りは2～16細胞期にあった．また交配後冷却水処置したものでは受精卵子（74個）の10.8%が桑実期，40.5%が胚胞期に達しており，残りの48.7%は2～16細胞期にあり，正常発育卵子の得られた個体のみについてみると60.3%の卵子が桑実期と胚胞期に達している．

以上の結果は，冷却水処置により第2極体を誘起した後に受精した卵子では，交配後48時間までは僅かに差を認める程度でほぼ正常の分割過程を辿るが，72時間に至れば相当に発育の遅滞や中止を来し，96時間ではこの傾向が一層明確になることを示すものである．なお，冷却水処置の場合の卵子の分割が未受精卵子の分割ではなく，若干の例外はあるとしても大部分は受精後に行なわれた正常な分割であることは，交配後48時間の観察において受精卵子の67%（無処置では69%）に精子尾部を確認していることによって明らかである．これらの事実から筆者は，第2極体形成後受精した卵子も受精後発育して，初期の分割へすすみ，さらにそのうちの若干は胚胞期にまで達し得るものと考える．

次に分割の速度についてであるが，ラットでは第1分割紡錘糸の形成は正常交配後30～32時間[44]，または発情開始後30～35時間[66]でみられ，2細胞期に達するのは精子侵入後19～23時間だと称されている．またISHIDA[48]によれば，2～4細胞期は24～36時間以後，8細胞期は72時間以後，16細胞期は84時間以後，桑実期は96時間以後であるという．GILCHRIST & PINCUS[38]，PINCUS[70]もほぼ同様か，僅かに遅い時間を報じている．筆者の場合もすでに記したように，交配後48時間では1～4細胞期，主として2細胞期，72時間では3～8細胞期，主として4細胞期，96時間では桑実期～胚胞期，大部分は胚胞期に達しているので，概ねISHIDA[48]，GILCHRIST & PINCUS[38]，PINCUS[70]の記載するところと一致するといい得よう．なお，ハムスターでは第1分割は交配後約24時間[9,41]だといわれるのでラットとほぼ同様といい得べく，山羊，緬羊では交配後38～39時間で2細胞期に達し[37]，豚は交配後50時間でさらに僅か遅く，牛もほぼ同様であるがその後の分割速度は山羊と共に最も遅いといわれるので[36,70]，ラットはこれらの動物より分割がやや早いといい得る．家兎では精子侵入後11～14時間で第1分割紡錘糸の形成があり，12～15時間で2胞細期に達するので[69,73]，ラットの精子侵入後19～23時間[24]に比較して相当早いといわねばならない．

分割した卵子が如何なる時期に子宮に到達するかについてはHUBER[44]は交配後第4日（12～胚胞期），MARSHALL[58]の引用によれば交配後96～109時間，CHANG & PINCUS[36]は交配後70～96時間（胚胞期の初期），ISHIDA[48]は交配後96時間（桑実期～胚胞期）であるとなしているが，筆者の観察では交配後72時間(排卵後ほぼ75時間)で無処置の場合は観察卵子の75%，受精卵子の79%は子宮内で見出され，冷却水処置のものでは観察卵子の50%，受精卵子の49%は子宮内卵子であり，しかもこの時期の多くの卵子は4細胞期にあった．この事実から，交配後72時間を経過すれば，受精卵子も未受精卵子の場合[47]同様子宮に到達し得るものと考えられる．そしてこの結果は，前記諸氏[36,44,48]の記載よりも，交配後の経過時間，及び発育程度において幾分早いことになる．

二　胎児の発育と出産

人工的に第2極体を形成せしめた卵子も，受精して分割過程に入り，時間の経過と共に発育の遅滞もしく

は中止を来すものを増加していくが，中には子宮に着床し，さらに出産にまで至るものも存するであろうことは，第15～16表の成績によって知られる．無処置の場合をみるに，先ず考慮されねばならないことは排卵後の交配であることである．すなわち，正常交配においては59匹の93%に当る55匹が出産し，親1匹当りの産仔数は10.9匹であるのに対し，排卵後2 1/2～4時間の交配では着床は15匹中14匹にみられ，平均着床数は9.1個，さらに出産は35匹の89%に当る31匹にみられ，その平均産仔数は7.9匹であって，正常交配の場合よりも減少している．このような妊娠率の低下ならびに産仔の減少の傾向は，例数も少く，雄にもその責があるので明言出来ないが，恐らくは受精卵子の比率の低下，発育の中止や妊娠中の胎児の死亡等に基因するものと推測される．

一般に卵子の受精可能時間はいずれの動物においても短かく，家兎ではHAMMOND[42]が正常交配から排卵前5時間までの交配では受胎率も産仔数も殆んど差がないが，排卵時の交配ではやや低下し，排卵後2時間では極めて悪いと称しており，CHANG[32]も排卵後3時間の交配では受精率100%（正常分割卵子97%）であるが，4時間では90%（正常分割卵子88%），その後急激に低下して7時間では37%（正常分割卵子32%），9時間では僅か3%で，しかも正常分割卵子は得られないことを報じている．ラットではBRADEN & AUSTIN[26]が排卵後5～9時間の交配では正常交配と殆んど変らぬと称しているが，これに対しBLANDAU & JORDAN[32]は排卵後6～20時間の種々な時期に人工授精を行ない．排卵後6時間ですでに妊娠率47%となり，しかも64匹中31匹は異常妊娠で，正常妊娠の33匹（52%）の平均産仔数は4.6匹であって，この結果は正常交配の妊娠率83%，平均産仔数6.7匹に比し，相当な低下であることを記している．さらに排卵後10時間では28匹（供試ラットの22%）の妊娠のうち正常妊娠は6匹にすぎず，その平均産仔数は1.8匹であり，排卵後12時間では4%のラットが異常妊娠したのみで，18～20時間では異常妊娠さえなかったことを報じている．これらの結果はBRADEN & AUSTIN[26]を除いて，いずれも排卵後時間の経過と共に受精率や受胎率の低下，異常妊娠の増大を示すものであり，上記の筆者の結果を裏書きするものである．

このような排卵後産仔数の減少する事実を考慮に入れて第2極体誘起処置の場合をみるに，種々な処置が卵子の生存に悪影響をもたらし，かつその処置如何により，影響する程度も多少の相違を示すことを伺い知り得る．すなわち，処置後交配した場合は胎児の着床において，冷却水では35匹中22匹，0.3%ラボナールでは15匹中9匹，0.4%ラボナールでは23匹中14匹であり，産仔を得たものは冷却水では20匹中12匹，0.4%ラボナールでは15匹中10匹，冷刺戟では10匹中4匹であり，いずれも無処置の場合において90%前後のものが着床し，出産しているのに比して相当な低下である．しかしながら，交配後冷却水処置を行なって，第2極体形成後受精せしめたものでは20匹中17匹が着床し，15匹中12匹が出産して，着床ならびに出産に至ったラット数の増加を示した．さらに処置後交配を行なった場合の親1匹当りの平均着床胎児数をみるに，冷却水処置では3.1個（1～7個），0.3%ラボナールでは6.2個（2～11個），0.4%ラボナールでは5.4個（1～10個）であり，平均産仔数は冷却水では3.3匹（1～8匹）0.4%ラボナールでは5.3匹（2～8匹），冷刺戟では2匹（1～3匹）であった．また交配後冷却水処置を行なったものでは，平均着床数は3.5個（1～8個），平均産仔数は3.6匹（1～6匹）で僅かな増加を示した．なお，これらの成績のうち，冷却水処置の場合は，交配後96時間における正常発育卵子の得られる割合（第14表）とほぼ一致した．すなわち，処置後交配したものでは20匹中14匹から31.9%の正常発育卵子が得られ，交配後処置したものでは10匹中8匹から46.9%の桑実期及び胚胞期卵子が得られる事実と概ね一致している．また冷却

水処置とラボナール処置の場合の着床胎児数及び産仔数の成績の差違は，これらの処置によって第2極体の形成に至る卵子の比率（第3表及び第7表）の相違によって説明されるであろう．すなわち冷却水では92.3～96%，0.3%ラボナールでは48.9%，0.4%ラボナールでは67.3～79.3%の卵子が第2極体の形成に至るので，冷却水処置よりも0.4%ラボナールの場合が，さらに0.4%よりも0.3%の場合が，着床胎児数ならびに産仔数において優れているのは，より多く第2極体未形成のまま受精された卵子を含むが故の結果であると解される．これらの事実から筆者は，第2極体形成後受精した卵子も，その率は相当低下するとしても，とにかく一部のものは発育を遂げ，子宮に着床して出産に至ることも可能であろうと考える．

以上の筆者の結果からみるとき，ラットにおける第2極体の形成は，卵子の成熟分裂完成の最終的過程を辿らしむたるめのものであり，受精における精子の役割の一半は，かかる目的を最も有効適切に果すにあると考えられるが，同時に第2極体の形成は必ずしも受精という方法によらずとも，換言すれば精子の存在はなくしても可能であり，しかもかくして遂げられた第2極体の形成は，以後の卵子の受精と発育，特に初期の発育を不可能ならしむるものではないと考えられる．

E. 小 括

3～4℃の冷却水，0.3～0.4%ラボナール液，冷刺戟（氷片）の卵管への直接適用及び0.85%食塩水の子宮角内注入によって第2極体を誘起し，主としてその後交配し，一部は，交配後冷却水処置を行なって第2極体形成後精子侵入を行なわしめて，受精から出産に至るまでの過程を検討して次の結果を得た．

イ 第2極体形成後の受精

a) 受 精

1. 第2極体誘起処置後の交配による精子侵入率は，交配後5時間では57.2%（冷却水；53.5%，0.4%ラボナール；50.7%，冷刺戟；56.5%，0.85%食塩水；64.7%），交配後6時間では71.5%（冷却水；71%，0.4%ラボナール；64.3%（冷刺戟；73.8%，0.85%食塩水；75.9%）であって，無処置の場合の交配後5時間で58.3%，6時間で79.2%に比し著るしい差違はなかった．

2. 第2極体誘起処置後に交配を行なった場合の第2極体保有卵子の割合は，交配後5時間では観察卵子の78.7%（348個のうち274個，処置別に64.7～90.7%），精子侵入卵子の80.9%（199個のうち161個，処置別に69.7～91.8%であり6時間では観察卵子の83.8%(130個のうち109個，処置別に72.4～93.5%），精子侵入卵子の85%（93個のうち79個，処置別に72.7～95.5%）で交配後5時間と6時間の間に差がなった．これに対し，無処置では交配後5時間で観察卵子の12.6%（151個のうち19個），精子侵入卵子の20.5%（88個のうち18個）が第2極体を有するが，6時間では観察卵子の51.4%（72個のうち37個），精子侵入卵子の63.2%（57個のうち36個）で交配後の時間の進行に伴って増大する．以上の事実は無処置では精子侵入によって第2極体の形成が行なわれるが，処置したものでは第2極体の形成したものに精子が侵入することを示すものである．このことは無処置では第2極体を有する卵子の殆んどすべてが精子侵入卵子であるのに対し，処置したものでは交配後5時間で41.2%，6時間で27.5%の卵子が精子無侵入卵子であることによっても伺い知り得る．

3. 無処置で交配したラットから得た223個の卵子のうち56個（25.1%）が第2極体を有し，その80.4%に当る45個は精子頭部が膨大変化したものであり，かかる階梯に至らざるものは11個（19.6%）にすぎない．しかるに第2極体誘起処置後交配したものでは478卵子のうち381卵子（79.7%）が第2極体を有し，その15.5%に当る59個が精子頭部の膨大変化しているにすぎず，かかる階梯に至らざるものは精子無侵入

の141個を含む322個（84.5%）であった．

4. 排卵後の交配において，5時間後と6時間後の無処置の場合の多精子侵入卵子は3.1%（223個のうち7個），多精子受精卵子は0.9%（2個）であり，処置後交配したものでは多精子侵入卵子は5.4%(478個のうち26個)，多精子受精卵子は2.3%(11個)であった．なお多精子受精卵子のうち，冷却水処置の1個が3精子によるほか，残りはいずれも2精子侵入であった．

b 前 核 形 成

1. 交配後9時間の観察では，無処置では53卵子のうち41個（77.4%，精子侵入卵子の91%）が雌雄両前核を形成し，冷却水処置後交配したものでは95個のうち60個（63.2%，精子侵入卵子の76.9%）に両前核の形成がみられ，さらに雄性前核のみのもの3個，雌性前核と膨大変化した精子頭部とを有する卵子6個が存在した．

2. 交配後24時間では無処置の場合，受精した卵子40個（81.6%）のうち23個は雌雄両前核が相接近しており，8個は融合し，さらに3個は紡錘糸を有し，2個は2細胞期にあった．冷却水処置後交配した場合は，受精卵子38個（70.4%）のうち22個は両前核が接近しており，他に融合したもの6個，紡錘糸を有するもの1個，2細胞期のもの1個であったが，精子無侵入の1細胞期の卵子13個のうち11個，及び結紮した左側卵管内卵子46個のうち41個には第2極体を有した．

3. 無処置の交配後3時間では，精子侵入卵子はなく，4時間では24%（99個のうち24個）である．交配後冷却水処置を行なったものの交配後3時間（左側卵管）の観察では，51個のすべてが精子無侵入であるにもかかわらず，そのうちの47個（92%）は第2極体を有し，同一個体の交配後24時間（右側卵管）の観察では，受精卵子34個（65.4%）のうち12個は雌雄両前核が接近した状態にあり，9個はすでに融合し，3個は1個の雌性前核と2個の雄性前核を有するほか，紡錘糸を有するものと2細胞期のものは計7個であった．

4. 以上の結果から，第2極体形成後の受精によっても，前核は形成され，前核は発育することが出来ると考えられる．

ロ 受精後の卵子の分割

1. 交配後48時間において，無処置では49個のうち受精卵子42個（85.7%），正常発育卵子41個(83.7%)で，1～4細胞期にあり，そのうち30個（受精卵子の71.4%）は2細胞期にある．冷却水処置後交配したものでは101個のうち73個（72.3%）が受精し，正常発育卵子は65個（64.4%）で1～4細胞期にあり，そのうち48個（受精卵子の65.8%）は2細胞期にあった．なお，無処置で29個（69%），冷却水処置で49個(67%)の卵子に精子尾部が観察された．

2. 交配後72時間では，無処置の場合は64個のうち53個（82.8%)が受精し，正常発育卵子は52個(81.2%)で，3～8細胞期にあり，そのうちの49個（受精卵子の73.6%）は4細胞期に，13個（24.5%）は5～8細胞期にあった．冷却水処置後交配したものでは，97個のうち受精卵子は67個(69.1%)，正常発育卵子は43個(44.3%)で，2～6細胞期にあり，そのうちの37個（受精卵子の55.2%）が4細胞期に，6個が5～6細胞期にあった．

なお，無処置では48個（75%，受精卵子では42個または79.2%），冷却水処置では48個（50%，受精卵子では33個または49%）は子宮内から得られた．

3. 交配後96時間に至れば，無処置の場合は受精卵子111個(87.4%)の殆んどすべてが正常に発育して

4. 考　　察

卵子のそれは成熟の階梯において不平等分割を行なって一方が極体となって放出を遂げる。すなわち，第1成熟分裂において第1極体を形成し，第2成熟分裂において精子の侵入をうけて第2極体を形成してから卵子となる。しかも著者がラットにおいて証明したように（第1～4表），第2極体の形成には精子の侵入は必要のものでなく，精子はその最も有利適当な機会の一回だけにできないとも考えられる。もし第2極体の形成が，受精なるがために発生の一部分としてのみ存在するのであれば，卵子は受精のそなえたような機構の発現によって，しかも何故に第2極体を形成するにはあたかも，準備されは，それによって単為発生に企図するのと同程度の困難さにおいてのみ達成せられるであろう。かく考えるとき，第2極体の形成をもって，卵子の初期の単為生殖的な方向へ活性化されたと見做し，各種の処置が分割の現象に対して影響を与えるものとする従来の考えでは説明には若干の疑義がある。著者は卵子活性化は，むしろ精子の侵入に関し，成熟への方向の二つにおいて考えるのが適当であって，第2極体の形成は後者に属すると考えるが故に精子は活動体を形成せしめて，卵子の発生なるがために必要のものであるかのごとくに考えるのは極めて重要な問題であると考えられるが，単為発生は人工的に活動体を形成せしめれば可能と考えられる。事実PINCUS二～三は成熟の第2極体のみを除して活動体を形成せしめ，新個体（ラットの発生なるがために極めて重要な問題であると考えられるが，単為発生は人工的に活動体を形成せしめれば可能と考えられる。事実PINCUS二～三は成熟の第2極体のみを除して活動体を形成せしめ，新個体（ラットの発生なるがために極めて重要な問題である22～33,71～72,75～76）。しかしながら，家兎で可能な第2極体抑制の処置は，ラットではかえって第2極体を形成せしめるので（第1～4表），かかる着想に基づく人工的単為発生を行なうことは今のところ困難であろう。また受精卵子の分割は普通におこり，その機構は卵割分割とも動すべきものであるが，それは常に退化の過程におけるものであり，単為生殖的なものではないことはすでにこれを明らかにした。故にラットにおいては，自然及び人工的単為発生の可能性は，現在のところ否定なりと考えるのである。

第2極体形成に関する前成卵子としての卵子の役割は最も重要な問題である。なぜならば，卵子の成熟分裂の完成と新しい個体の形成とは相続いて行なわれるからである。そしてこのことが卵子の正常を維持し，さらに発生をすすめる上に必要な点であることは疑う余地がない。しかしながら，成熟分裂の完成と新しい個体形成とを分離しても，すなわち第2成熟分裂に新個体形成をなさしめても，そのために卵子の発育を不可能にするものではないと考えられる。例えば各種の処置によって第2極体を誘起し，その後精子侵入により個体を形成せしめても，受精した卵子は雌雄の前核を形成し，分裂して発育することが明らかである，さらにその子孫が若干は子宮に着床し，ときにそれが胎児にまで発育することも証明した（第9～16表）。これらの考えは他の処置をするものであるが，かく考えるとき，卵子の第2極体の形成は精子の侵入なしにも行なわれ，受精もしくはほぼ同様と推測されることや，ハムスター7）では自然に第2極体を形成する卵子の多いことなどは

はなかろうかと推測される．しかしながら，以上はあくまで推測的見解であって，今後の卓越した手段による，幾多の綿密な検討の上に明言されるべき重大な問題であると思推される．

Ⅵ. 総　　括

受精生理の基礎的課題たる卵子の生理の一端を解明せんとし，各種の処置を行なって第2極体を形成せしめて，その機構を明らかにし，卵子活性化，人工的単為発生の可能性について検討した．さらに第2極体形成後の受精と発育についても追究し，受精における第2極体形成の意義，ならびに受精現象について考察を加えた．

本研究に使用したラットは総計973匹，そのうち個体の観察に用いたものは334匹であり，観察した卵子は639匹のラットから得た6,278個について行なった．

1. in vitroにおけるラット卵子の第2極体の形成は，タイロード液，リンガー液，ラット血清，精子浮遊液によって，79.1～81.9%に観察されるほか，2,000—4,000V.U.M.スプラーゼ液（58～64%）によっても形成される．なお，第2極体の形成に要する時間は1時間である．

2. エーテル麻酔では3.1～13.9%，ラボナールの皮下注射では2.7%の卵子に第2極体の形成をみるにすぎないが，エーテル，1%ラボナール液，氷片（冷刺戟）を直接卵管に処置すると，93～96.2%の卵子に処置後1時間で形成される．

3. 卵管に適用するラボナールの濃度が0.5%の時は83.2%の卵子が$1\frac{1}{2}$時間で，0.4%の時は67.3%の卵子が$1\frac{3}{4}$時間で，0.3%の時は48.9%の卵子が2時間で第2極体を形成し，また冷却水処置では，3～4℃の場合は96%の卵子が$1\frac{1}{2}$時間で，5～6℃の時は$1\frac{3}{4}$時間で88.4%の卵子が第2極体を形成する．

4. 各種溶液を子宮角内に注入する方法によっては，0.85%食塩水では68.8～75.9%の卵子が$3\frac{3}{4}$～4時間で第2極体を形成し，5%葡萄糖液では56.7%，家兎精液及び精清では73.1～75%，5,000V.U.M.スプラーゼ液では57.5%に形成されたが，ラット血清，タイロード液，リンガー液，鶏精液では第2極体の形成率が低く，11.4～36.3%にすぎない．

5. ラット卵子の第1極体は排卵前後の時期に極体'A'から，その退化型である'B'へ移行し大部分の卵子（89%）において排卵後長時間にわたって存在し．第2極体を形成した場合の多く（89%）は'B—C'型として観察出来る．

6. ラット卵子の生活力保有時間を第2極体形成能でもって判定するとき，概略排卵後22時間と推定される．

7. 第2極体形成後の卵子の染色体は凝縮しているが，冷刺戟の処置後5時間では約半数に，7時間では大部分の卵子に染色体の分散がみられる．ラボナールの処置後9～11時間では，0.5%の場合49～81%，0.4%の場合38～62%の卵子に染色体の分散がみられ，冷却水（3～4℃）処置後9～11時間での染色体の分散した卵子は32～42%であった．

8. 0.4%ラボナール，冷刺戟の処置後の卵子にも分割がおこるが，その割合は処置後27～29時間（排卵後30時間）で41～43%（無処置では47%），処置後35～37時間（排卵後38～39時間）では58～72%（無処置では79%）であって，どちらかといえば無処置のものより，その進展においてやや遅いと考えられる．

9. 各種の処置によって第2極体を形成せしめた卵子も受精出来る．このことは処置したものの精子侵入

率が，交配後5時間で57.2%（無処置では58.3%），6時間で71.5%（無置処では79.2%）で無処置の場合と大差なく行なわれるが，第2極体を保有する卵子は，交配後5時間では観察卵子の78.7%（無処置では12.6%）または精子侵入卵子の80.9%（無処置では20.5%）であり，6時間では観察卵子の83·8%（無処置では63.2%）または精子侵入卵子の85%（無処置では63.2%）で交配後の経過時間に伴なう差のないこと，及び無処置では第2極体を有する卵子の大部分（80.4%）は精子頭部が膨大変化したものであるが，処置したものではこのような階梯にあるものは15.5%にすぎず，大部分の卵子は，精子無侵入を含むかかる階梯に至らざるものであるなどの諸点よりみて明らかである．

10. 交配後5時間と6時間における多精子侵入卵子は，無処置の場合3.1%（223個のうち7個；2個は多精子受精）処置したものでは5.4%（478個のうち26個；11個は多精子受精）で，処置と無処置の間に著るしい差違はなかった．このことよりして透明帯の働き，ならびに多精子侵入の防禦機構は第2極体の形成によって著るしく妨害されないであろうことが推測される．

11. 交配後9時間で無処置では77.4%の卵子に雌雄両前核が形成し，冷却水処置後交配したものでは63.2%に雌雄両前核が形成し，さらに雌性または雄性どちらか一方の前核のみを形成した卵子も若干存した．

交配後24時間の無処置では受精した卵子40個（81.6%）のうち31個，冷却水処置後交配した卵管無結紮の側（右側）の受精卵子38個（70.4%）のうち28個は，雌雄両前核が接近するか，または融合した状態にあり，1細胞期の不受精卵子及び結紮した側（左側）の大部分の卵子（84.6～89%）には第2極体を有した．

また交配後 $^{3}/_{4}$～1 $^{1}/_{2}$ 時間で冷却水処置を行なったものの左側卵管内卵子を，交配後3時間で観察すると，そのすべてが精子無侵入であるが，92%の卵子は第2極体を有する．右側卵管内卵子を交配後24時間で観察すれば，受精卵子34個（65.4%）のうち21個は雌雄両前核が接近するかまたは融合した状態にあった．

12. 冷却水処置後交配したものの正常発育卵子は，交配後48時間では64.4%（無処置では83.7%）で主として2細胞期にあり，交配後72時間では44.3%（無処置では81.2%）で主として4細胞期（最高は6細胞期；無処置では最高8細胞期）にある．96時間では無処置の受精卵子（87.4%）の殆んどすべてが桑実期（12個）と胚胞期（98個）に達するが，冷却水処置後交配したものでは22.6%（199個のうち45個；正常発育卵子の得られた個体のみについては31.9%）がこの階梯に達するにすぎない．

また交配後冷却水処置を行なって，第2極体形成後精子侵入を行なわしめた交配後96時間のものでは38.8%（正常発育卵子の得られた個体のみについては46.9%）の卵子が桑実期（8個）と胚胞期（30個）に達した．

13. 排卵後2 $^{1}/_{2}$～4時間で交配したラットの着床は15匹中14匹（平均着床数9.1個）にみられ，第2極体誘起処置後交配したラットの着床は，冷却水では35匹中22匹（平均着床数3.1個），0.3%ラボナールでは15匹中9匹(平均着床数6.2個),0.4%ラボナールでは23匹中14匹(平均着床数5.4個)にみられ，交配後冷却水処置したものでは20匹中17匹（平均着床数3.5個）が着床した．

14. 正常交配では59匹中55匹（平均産仔数10.9匹），排卵後2 $^{1}/_{2}$～4時間の交配では35匹中31匹（平均産仔数7.9匹）が出産したが，第2極体誘起処置後交配したものの出産は，冷却水処置では20匹中12匹（平均産仔数3.3匹），0.4%ラボナール処置では15匹中10匹（平均産仔数5.3匹），冷刺戟では10匹中4匹（平均産仔数2匹）にみられた．また交配後冷却水処置を行なったものでは15匹中12匹（平均産仔

数3.6匹）が出産した．

15. これら11～14の事実から，第2極体形成後受精した卵子も，雄核形成を行ない，分割して発育し得ると考えられる．さらにそのうちの若干は胚胞期に達し，子宮に着床して出産に至ることも可能であろうと考えられる．

16. 以上の結果から，ラットにおける第2極体の形成には刺激的，化学的な諸種の刺激が有効であり，精子は最適な刺激の一因子ではあろうが，その存在は必須の要件ではない，と考えられる．そして第2極体の形成は卵子の成熟分裂の最終的過程を辿らしむるためのものであり，受精における精子の使命もまた，それと同様な最も有効適切な手段であろうと考えられる．さらに受精卵子の分割発育の事実を考えるとき，受精した卵子が分割して発育する現象は，卵子の有する本来の性質によるものであって，受精によってはじめて獲得するものではない，とも見得る．故に受精において精子の果す使命のうちで，重要な遺伝的性質を含んだ染色体を導入して倍数体を形成することにあり，そして以後の発育を順調ならしむるために重要な寄与をなすものであって，受精の本質的意義もこの点に存するであろうことが推測される．

また，ラットにおける未受精卵子の分割は普遍的におこるが，それは常に退化の過程におけるものであり，さらに発見し得る第2極体抑制による倍数体形成の方法は，ラットでは逆に第2極体を形成せしめるので，ラットにおける自然なるに人工的単為発生の可能性は，現在のところ存在しない，と考えられる．

なお，本研究の要旨は昭和35年，昭和36年4月の日本畜産学会大会，ならびに昭和35年11月の日本畜産学会関東支部会において講演した．

Ⅵ. 引 用 文 献

1) AUSTIN, C. R. Nature, 162 : 63,1948. a. (from CHANG & PINCUS 1951)

2) ———— Nature, 162 : 534, 1948. b. (from CHANG & PINCUS 1951)

3) ———— The fragmentaion of eggs following induced ovulation in immature rats. J. Endocrinol., 6 : 104～109, 1949.

4) ———— Observation on the penetration of the sperm into the mammalian egg. Aust. J. Biol. Sci., B, 4 : 541～586, 1951. a.

5) ———— Activation and the correlation between male and female element in fertilization. Nature, 168 : 558, 1951. b.

6) ———— Polyspermy after induced hyperthermia in rats. Nature, 175 : 1038, 1955.

7) ———— Activation of eggs by hypothermia in rats and hamsters. J. Exp. Biol., 33 : 338～347,1956. a.

8) ———— Effect of hypo- and hyperthermia on fertilization in rat eggs. J. Exp. Biol., 348～357, 1956. b.

9) ———— Ovulation, fertilization and early cleavage in the hamster. J. R. micro., Soci.. 75 : 141～154, 1956. c. (from AUSTIN & BISHOP 1957)

10) ———— Fertilization, early cleavage and associated phenomena in the field vole. J. Anat. Lond., 91 : 1～11, 1957.

11) ———— Entry of the spermatozoon into the vitellus. COLE : Reproduction in Domestic Animals, : 412, 1959.

12) AUSTIN, C. R. & M. W. H. BISHOP. Fertilization in mammals. Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc., 32 : 296—349, 1957.

13) AUSTIN,C. R. & A. W. H. BRADEN. Polyspermy in mammals. Nature, 172 : 82,1953. a.

14) ——— ——— An investigation of polyspermy in the rat and rabbit. Aust. J. Biol. Sci., 6 : 674,1953. b.

15) ——— ——— Time .relation and their significance in the ovulation and penetration of eggs in rat and rabbit. Aust. J. Biol Sci., 7 : 179 ~194, 1954. a.

16) ——— ——— Induction and inhibition of the second polar division in the rat egg and subsequent fertilization. Aust. J. Biol. Sci., 7 : 195~210, 1954. b.

17) ——— Anomalies in rat, mouse and rabbit eggs. Aust. J. Biol. Sci., 7 : 537~542, 1954. c.

18) ——— Nucleus formation and cleavage induced in unfertilized rat eggs. Nature, 173 : 999,1954. d.

19) ——— Early reaction of the rodent egg to spermatozoon penetration. J. Exp. Biol., 33 : 358~365,1956.

20) BEATTY, R. A. Parthenogenesis and Polyploidy in Mammalian Development. Cambridge Monographs in Experimental Biolgy,1957.

21) BLANDAU, R. J. The first maturation division of the rat ovum. Anat. Rec., 92 : 449~457, 1945.

22) BLANDAU, R. J. & E. S. JORDAN. The effect of delayed fertilization on the development of the rat ovum. Amer. J. Anat., 68 : 275~291, 1941.

23) BLANDAU, R. J. & D. L. ODOR. Anat. Rec., 103 : 93,1949. (from CHANG & PINCUS 1951)

24) ——— ——— Anat. Rec., 106 : 11, 1950.(from CHANG & PINCUS 1951)

25) BLANDAU, R. J. & W. C. YOUNG. Amer. J. Anat., 64 : 303, 1939. (from CHANG & PINCUS 1951, BLANDAU & JORDAN 1941)

26) BRADEN, A. W. H. & C. R. AUSTIN. The fertile life of mouse. Science., 120 : 361~362, 1954. a.

27) ——— ——— Fertilization of the mouse egg and the effect of delayed coitus and of hot- shock treatment. Aust. J. Biol. Sci., 7 : 391~409, 1954. b.

28) ——— ——— Reaction of unfertilized mouse egg to some experimental stimuli. Exp. Cell Res.,7 : 277~280, 1954. c.

29) BRADEN, A. W. H.,C. R. AUSTIN & H. A. DAVID. The reaction zona pellucida to sperm penetration. Aust. J. Biol. Sci.,7 : 456~467, 1954.

30) CHANG, M. C. Cleavage of unfertilized ova in immature ferrets. Anat. Rec., 108 : 31~43, 1950. a.

31) ——— Fertility and Sterility. In press. 1950. b. (from CHANG & PINCUS 1951)

32) ——— Fertilizability of rabbit ova and effects of temperature in vitro on their subsequent fertilization and activation in vivo. J. Exp. Zool., 121 : 351~381, 1952.

33) ——— Development of parthenogenetic rabbit blastcysts induced by low temperature storage of unfertilized ova. J. Exp. Zool., 125 : 127~150,1954.

34) The maturation of rabbit oocytes in culture and their maturation, activation, fertilization and subsequent development in the fallopian tubes.

J. Exp. Zool., 128 : 379～405, 1955.

35) ——— Natural occurence and artificial induction parthenogenetic cleavage of ferret ova. Anat. Rec., 128 : 187～196, 1957.

36) CHANG, M. C. & G. PINCUS. Physiology of fertilization in mammals. Biol. Rev., 31 : 1～26, 1951.

37) CLARK, R. T. Studies on the physiology of reproduction in the sheep. Anat. Rec., 60 : 135～159, 1934. (from AUSTIN & BISHOP 1957)

38) GILCHRIST, F. & G. PINCUS. Living rat eggs. Anat. Rec., 54 : 275～287, 1932.

39) GREEN, W.W. & L. M. WINTERS. Anat. Rec. ,61 : 457.,1935(from CHANG & PINCUS 1951)

40) HAMILTON, W. J. & J. A. LAING J. Anat., 80 : 194,1946. (from CHANG & PINCUS 1951)

41) HAMILTON, W. J. & D. M. SAMUEL. The early development of the golden hamster. J. Anat., 90 : 395 ～416, 1956. (from AUSTIN & BISHOP 1957)

42) HAMMOND, J. J. Exp. Biol., 11 : 140,1934. (from PINCUS 1936.)

43) HARTMAN, C. G. Sex and internal secretions. Williams and Wilkins, Baltimore.(edited by ALLEN) 1932. (from AUSTIN & BRADEN 1953. a.)

44) HUBER, G. C. The development of the arbino rat, Mus norvegicus albinus. J. Morph.,26 : 247～387, 1915. (from AUSTIN & BISHOP 1957 ; PINCUS 1936)

45) 石橋功　白鼠の未受精卵子の分割について，日本畜産学会報，30（4）：212～218，1959.

46) ——— 白鼠の未受精卵子の分割，特に細胞学的観察，日本畜産学会報，32（5）：291～300，1961.

47) ——— ラットの未受精卵子の最終的運命について，日本畜産学会報，32（6）：339～343，1962.

48) ISHIDA, K. Cytological studies of tubal ova. Tohoku, J. Agri. Res., 5（1）：1～11,1954.

49) 伊藤祐之・工藤篤・丹羽太左衛門，豚の発情に関する研究．畜産試験場報告No. 49,1944.

50) 加藤浩　卵子の受精における諸問題．畜産の研究.,13（1）：121～124，1959.

51) 加藤浩・石橋功　精子の生理ならびに受精に及ぼすアルロニダーゼの影響．Ⅱ）家兎卵子の卵胞細胞の分散ならびに第2極体形成に及ぼすヒアルロニダーゼの影響．日本獣医畜産大学紀要，7：45～55,1958.

52) KEDROV, V. K. Problz., 4,1938. (from 加藤 1959)

53) KILKHAM, W. B. The maturation of the mouse egg. Biol. Bull., 12 : 259～265, 1907.

54) LAMS, H. Arch. Biol., 28 : 229, 1913. (from AUSTIN & BRADEN 1953. a.)

55) LEWIS, L. L. Oklahoma Agri. Exp. Stat. Bull., 96 : 3,1911. (from CHANG & PINCUS 1951)

56) LONG, J. A. Univ. California Publ. Zool., 9 : 105, 1912. (from CHANG & PINCUS 1951)

57) MAINLAND, D. The development of the ferret. the pronuclei. J. Anat., 64 : 262, 1930. (from AUSTIN & BISHOP 1957)

58) MARSHALL, S. Physiology of Reproduction. vol. II, p.37, 1952. Longmans, Green and Co. London, New York.

59) 桝田精一　牛の発情に関する研究．畜産試験場報告,56：72,1950.

60) MORICARD, M. R. & P. FONBRUNE. Nouvelle technique detude in vitro des mitoses de m. atiration de l'ovule des Mammifères Cas de segmentation parthĕnogĕnĕtique. C. R. Acad. Sci., 204 : 999～1000,1937.

61) 中村経紀　ハツカねづみ卵巣内でみられた卵の第2極体形成について．医学と生物，51（3）：100～102,1959

62) NOYES, R. W. Fertilization of follicular ova. Fertil. & Steril., 3 : 1～12,1952.

63) ODOR, D. L. The temporal relationship of the first maturation division of the rat ova to

the onset of heat. Amer. J. Anat., 97 : 461～493, 1955.

64) ODCOR, D. L. & R. J. BLANDAU. Anat. Rec., 103 : 164, 1949. a. (from CHANG & PINCUS 1951)

65) ——— ——— The frequency occurrence of supernumerary sperm in rat ova. Anat. Rec., 104 : 1～10, 1949. b.

66) — — Observation on the formation of the second polar body in the rat ovum. Anat. Rec., 110 : 329～348, 1951.

67) — — Incidence of polyspermy in normal and delayed matings in rats of Wistar strain. Fertil. & Steril., 7 : 456～467, 1956.

68) 尾川昭三・鈴木善祐　ラットの人工授精に関する研究，Ⅲ）人口昼夜転倒ラットにおける腟垢像及び排卵時刻について　家畜繁殖研究会誌 3（2）：75～77, 1957.

69) PINCUS, G. Observation on the living eggs of the rabbit. Proc. Roy. Soc., 107 : 132, 1930.

70) — The eggs of mammals.an Macmillian Campany. 1936.

71) — The breeding of some rabbit produced by recipient of artificially activated ova. Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 25 : 557～559, 1939. a.

72) — — The comarative behavior of mammaralian eggs in vivo and in vitro. IV. The development of fertilized and artificially activated rabbit eggs. J.Exp. Zool., 82 : 85～129, 1939. b.

73) PINCUS, G. & E. V. ENZMANN. Fertilization in the rabbit. J. Exp. Biol., 9 : 403～408, 1932.

74) ——— ——— The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro. II. The activation of tubal eggs of the rabbit. J. Exp. Zool., 73 : 195～208, 1936.

75) PINCUS, G. & H. SHAPIRO. The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro. VII. Futher studied on the activation of rabbit eggs. Proc. Amer. Phil. Soc., 83 : 631～647, 1940. a.

76) — — — — Futher studies on the parthenogenetic activation of rabbit eggs. Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 26 : 193～165, 1940. b.

77) PEARSON, O. P. & R. K. ENDERS. Ovulation, maturation and fertilization in the fox. Anat Rec., 85 : 69～83, 1943.

78) QUINLAN, J., G. S. MARE & L. L. ROCX. 18th Report of Director of Vet. Services and Animal Industry, Union of South Africa : 663, 1932. (from CHANG & PNICUS 1951)

79) RUNNER, M. N. & J. PALM. Length of life of the unfertilized ovnm of the mouse. Anat. Rec., 112 : 383, 1952.

80) SALZMAN, A. KONEVODSTVO., 7, 1936. (from 加藤 1959)

81) — — Sovestsk. Zootec., 4, 1939. (from 加藤 1959)

82) SHAPIRO, H. Parthenogenetic activation of rabbit eggs. Nature, 149 : 304, 1940.

83) SOBOTTA, J. Die Beruchtung und Furchungs des Eies der Maus. Arch. f. micro. Anat. Entwick., 45 : 15～93, 1895 (from AUSTIN & BISHOP 1957)

84) THIBAULT, C. La parthĕnogĕnĕse expĕrimentale chez le Lapin. C. R. Acad. Sci., 224 : 297～299, 1947. a.

85) — — Essai de parthĕnogĕnĕse expĕrimentale chez le Rat. C. R. Soc. Biol., 141 : 607～608, 1947. b.

86) — L' ctivation et la règulation de l'ovocyte parthĕnogĕnetique de Lapin. C. R. Soc. Biol., 142 : 495～497, 1948.

87) L'oeuf des mammiferes. Ann. Sci. Nat. (Zool) 11 ser. : 136～219, 1949. (from

AUSTIN & BRADEN 1954. b. : BEATTY 1957)

88) THIBAULT, C. & R. ORTAVANT. Parthĕnognĕse exprĕrimentaie chez la brebis. C. R. Acad. Sci., 228 : 510～511, 1949.

89) VAN der STRICHT, O. Arch. de Biol., 26 : 365,1911. (from AUSTIN & BISHOP 1957)

90) WILSON, E. B. The Cells in Development and Heredity., MacMillian Co., New York. 1925. (from AUSTIN & BRADEN 1953. a.)

91) YAMANE, J. The proteolytic activation of mammalian spermatozoa and its bearing upon the second maturation division of ova. Cytologia., 1 : 394～403, 1930.

92) ——— Kausal—analytische Studien uber die Befruchtung des kanincheneies. I) Die dispersion der Follikelzellen und die Ablösung der Zellen der corona radiata des Eies durch Spermatozoen. Cytologia, 6 : 233～255, 1935. a.

93) ——— Kausal-analytische Studien uber die Befruchtung des Kanincheneies. II)Die Isolierung der auf das Eizytoplasma auflösend wirkenden Substanzen auf den sperma tozoen. Cytologia., 6 : 474～483, 1935. b.

94) 山根甚信 家兎卵子における第2極体形成と精子侵入との関係 特に精子の蛋白分解酵素の証明，遺伝学雑誌., 11 : 74～81, 1935. c.

95) ——— 家畜生理学領域における Hyaluronidaseの意義．スプラーゼ文献集 No. II, p. 60～69, 1952.

96) ZIVOTKOV, H I., K. S. GONCARENKO & A.G. KRIVOSCEKOV. Probl. Zivotn., 3, 1936. (from 加藤 1959)

Summary

Experiments were performed to induce the formation of the second polar body in the unfertilized ovum of the rat by various types of treatment, so that the mechanism of its formation might be discussed. In them were also examined the cytological features and cleavage after induction of the second polar body.

The present sudies were under taken to ascertain the possibilicy of an ovum to be fertilized and develop after formation of the cecond polar body in the rat.

I. The mechanim of formation of the second polar body.

A. The induction of second polar body.

1. When uufertilized ova of the rat were incubated in the Tyrode solution Rinder solution, rat serum, and rat sperm extract at 37°C, the second polar body was induced in 79.1～81.9% of the ova. It was formed, however, in 64 to 58% of such ova as stored in 2,000— or 4,000— V.V.M. sprase solution.

No second polar bndy was formed in ova stored in uterine fluid. Whn stored in 0.85% salt solution and 5 % glucose solution, ova were dissolved, giving no data.

It took one hour for the second polar body to be formed.

2. The second polar body was formed in 3.1～13.9 % of the ova with ether anesthesia and in 2.7 % of the ova by 1 % ravonal solution injected subcutaneously.

In contrast to this, the second polar body formed in 93～96.2% of the ova at one hour after ether treatment for $^1/_4$ minute, 1 % ravonal solution treatment for $^1/_4$ minute, and cold shock (ice) treatment for 1～1 $^1/_2$ minutes had been given to the oviducts.

3. When the oviducts were treated with 0.5, 0.4, 0.3 % ravonal solution, the formation of second polar body was observed in 83.2 %, 67.3 %, and 48.9 % of the ova at 1 $^1/_2$, 1 $^3/_4$, and 2

hours after treatment, respectively.

When they were treated with cold water at 3~4 ℃ or 5~6 ℃, the second polar body induced in 96 and 88.4 % of the ova after 1 1/2 and 1 3/4 hours, respectively.

4. When the uterine horn was injected with 0.85 % salt solution, 5 % glucose solution, rabbit sperm, rabbit seminal serum, or 5,000 V.U.M. sprase solution, the second polar body was formed in 68.8~75.9 %. 56.7 %, 75 %, 73.1 %, or 57.5 % of the ova, respectively.

When rat serum, Tyrode solution, Ringer solution, or cock sperm was injected, the second polar body was formed in only 11.4~36.3 % of the ova. It took 3 3/4~4 hours for second polar body to be formed when 0.85 % NaCl had been injected.

B. The duration of the vitality of the rat ovum was determined from the results of the artificial induction of second polar body brought about by treatment with cold water (3~4 ℃) at various hours after ovulation.

1. When treatment with cold water was given at 12~16, 18, 20, and 22 hours after ovulation, the second polar body was in 91.1, 79.5, 70.7, and 40.8 % of the ova, respectively.

2. Of 58 ova treated 20 hours after ovulation (observed from 1 1/2 to 2 1/2 hours after treatment), one had a 'polar-body-like cell' and 9 were cleaved ones. Of 49 ova treated 22 hours after ovulation, 16 had a 'polar-body-like cell' and 9 were cleaved ones.

3. From the results mentioned above, the duration of the vitality of the rat ovum is estimated to be about 22 hours after ovulation.

C. According to the features of the polar bodies, 3,542 ovulated ova of the rats were classified as follows.

1. Of the 3,542 ova, 1,898 were lacking in the second polar body. Of the 1,898, 1,686 ova(88.8%) were of 'B' type, 19 ova (1 %) of 'A' type, 7 ova (0.4 %) of 'B'' type, and 186 ova (9.8%) had no first polar body.

2. The remaining 1,644 ova possessed the second polar body. Of them, 1,466 ova (89.2 %) were of 'B+C' type, 5 ova (0.3%) of 'A+C' type, 16 ova (1.0%) of 'B'+C' type, 8 of other types, 149 ova (9.1%) possessed only the second polar body ('C' type).

3. Of the 3,542 ova, 335 (9.5%) were lacking in the first polar body.

4. From these results, it is thought that degenerative changes occur more or less rapidly in the polar body owing to its scanty cytoplasm, and that dissolution of the second polar body occurs a relatively long time after ovulation.

During the process of degeneration, cleavage sometimes occurred to the first ploar body. This phenomenon was observed also on the second polar body.

D. Cytological changes and cleavage of the ovum after induction of the second polar body.

1. Soon after the second polar body had been formed, the chromosomes in the ovum usually appeared to be a dense mass. Scattered chromosomes were still seen, however, in 27% of the ova examined 3 hours after cold shock treatment, 48% of those at 5 hours, 70% of those at 7 housr, and nearly 100% of those at 9 hours.

2. The second polar body was formed in 79.3, 90.4, and 92.3% of the ova examined 5~11 hours after treatment with 0.4 % and 0.5% ravonal solution and cold water (3~4 ℃), respectively.

3. Scattered chromosomes were observed in only a few ova 5~7 hours after treatment whit 0.4 or 0.5 % ravonal solution. They were noticed in 38 % of the ova examined 9 hours and 62 % of those examined 11 hours after treatment with 0.4% ravonal solution, and in 49 and 81 % of those examined 9 and 11 hours, respectively, after treatment with 0.5 % ravonal solution.

4. For 7 hours after cold water treatment, almost all the ova treated retained chromosomes in condensed state but 9~11 hours after the same treatment 32~42 % of the ova treated contained scattered chromosomes in the cytoplasm.

5. Cleavage occurred to 41 % of the ova treated with cold shock and 43 % of those treated with 0.4 % ravonal solution when 27~29 hours had passed after treatment for induction of the second polar body (30 hours after ovulation). The former ova reached the 7-cell stage and the latter the 10-cell stage at the maximum. No difference could be seen in this regard between the treated and untreated control ova.

6. When 35~37 hours had passed after respective treatment, 72 and 58 % of the ova to which cleavage had occurred after treatment with cold shock and 0.4 % ravonal solution, respectively, reached the 8-cell or 10-cell stage at the maximum.

These results show that cleavage occurred at a lower percentage and made slower progress in the group of treated ova than in untreated control ones.

After cold shock treatment, pseudo-normal ova increased slightly in number (13 out of 39 ova). It is not apparent, however, that this result was brought about by the effect of cold shock treatment.

Ⅱ. Fertilization and development of the rat ovum after formation of the second polar body.

A. Fertilization after formation of the second polar body.

a) Fertilization.

1. Of the ova in which the second polar body had been induced artificially, 57.2 and 71.5 % were found to have been penetrated by the sperm 5 and 6 hours, respectively, after copulation. No significant difference in percentage of sperm-penetrated ova was found between rats copulated after treatment for artificial second polar body formation and those copulated with no preceding treatment (58.3 % at 5 hours and 79.2 % at 6 hours after copulation).

2. Of the ova of rats copulated after treatment for artificial second polar body formation, 78.7 and 83.8% (12.6 and 51.4 % of the ova of untreated control) were found to possess the second polar body 5 and 6 hours, respectively, after copulation. In other words, of the sperm-penetrated ova 80.9 and 85 % (20.5 and 63.2 % in the control group) were found to possess the second polar body 5 and 6 hours, respectively, after copulation.

It is clear from these results that the difference between the percentage at 5 hours and that at 6 hours is small in the case of treated rats and that the percentage increased with the lapse of time in the case of untreated control rats.

3. Almost all the ova which possessed the second polar body had been penetrated by spermatozoa in the untreated control group. In the treated group, 41.2 and 27.5 % of the ova with the second polar body were found to have no spermatozoa penetrating them 5 and 6 hours, respectively, after copulation.

4. Nearly all the sperm-penetrated ova with the second polar body in the untreated control group (80.4 %) had a swollen sperm head in the cytoplasm.

In the rats copulated after the treatment for second polar body formation, only 15.5 % of 381 ova with second polar body had a swollen sperm head in the cytoplasm.

5. The percentage of ova with supplementary spermatozoa was 3.1 % 5 and 6 hours after copulation in control rats copulated after ovulation, but it was 5.4 % in those copulated after the second polar body had been induced.

The percentage of polyspermic ova was 0.9 % in the control group and 2.3 % in the treated group.

6. The facts mentioned above indicate that the second polar body was formed before the penetration of a sperm in the treated group and that the penetration of a sperm into the ovum after the second polar body formation was possible.

b) Pronucleus formation.

1. Nine hours after copulation, the percentage of ova with male and female pronuclei was 77.4 % (41 out of 53 ova) in the control rats and 63.2 % (60 out of 95 ova) in rats copulated after cold water (3~4 ℃) treatment. Of 95 treated ova, 9.5% (12 ova) had either male or female pronucleus.

2. Of 40 fertilized ova of control rats 23 were in a state where male and female pronuclei were approaching each other, 8 were at syngamy, 3 had male multi-pronuclei, 3 with a cleavage spindle, and 2 were in the 2-cell stage 24 hours after copulation.

Of 38 fertilized ova collected from the unligated right oviduct of rats copulated after cold water treatment, 22 were in a state where male and female pronuclei were approaching each other, 6 were at syngamy, 5 had male multi-pronuclei, one possessed a cleavage spindle, and one was in the 2-cell stage 24 hours after copulation.

Almost all the unfertilized ova in the one-cell stage collected from the unligated right oviducts and ligated (at the tube-uterine junction) left oviducts possessed the second polar body 24 hours after copulation.

3. Notwithstanding, the ova collected from the left oviducts of rats treated with cold water $^{3}/_{4}$~$1^{1}/_{2}$ hours after copulation were all unfertilized ones when observed 3 hours after copulation, and 92 % of them possessed the second polar body.

Of 34 fertilized ova collected from the right oviducts 24 hours after copulation, 12 were in a state where male and female pronuclei were approaching each other, 9 were at syngamy, 3 possessed male multi-pronuclei, 3 had a cleavage spindle, and 4 were in the 2-cell stage.

4. From these results, it was considered that the pronucleus formation and development could be attained even when a rats was copulated after the second polar body formation.

B. Cleavage of ovum after fertilization.

The author assumed that fertilized ova were normally developing when they were at least at the 2-cell stage at 48 hours, at the 4-cell stage at 72 hours, and at the morula or blastula stage at 96 hours after copulation.

On the basis of this assumption, the results of experiments on this subject are summarized as follows.

1. At 48 hours after copulation, the percentage of normally developing ova was 83.7% in control rats and 64.4 % (fertilized ova being at 72.3 %) in rats copulated after cold water treatment. Most of the ova in both groups were at the 2-cell stage.

The sperm tail was observed in 69 and 67 % of the fertilized ova in the control and the treated group, respectively.

2. At 72 hours after copulation, 52 pieces, or 81.2 % of the ova observed in the control grouq were normally developing ones. Of the 52 ova, 39 were at the 4-cell stage and 13 at the 5- to 8-cell stage.

Of 97 ova derived from rats copulated after cold water treatment, 67, or 69.1 %, were fertilized ones and 43, or 44.3 % were normally developing. Of the 67 fertilized ova, 37 or 55.2 %, and

6 or 9 %, were in the 4-cell stage and in the 5- or 6-cell stage, respectively.

Three-quarters of the observed ova derived from control rats and half of those derived from rats treated with cold water were recovered from the uteri.

3. All fertilized ova, but one, or 86.6 % of 127 ova, derived from control rats were in morula (12 ova) or blastula (98 ova) stage 96 hours after copulation. Only 45 or 22.6 % of 199 ova (or 31.9 % of 141 ova recovered from 14 rats which possessed the normally developing ova), derived from 20 rats which copulated after cold water treatment were in the morula (3 ova) or blastula (42 ova) stage at the same period.

Of 98 ova derived from 10 rats treated with cold water $^3/_4$~1 $^1/_2$hoursa fter copulation, 75.5 % were fertilized ones and 38.8 % of 98 ova (or 46.9% of 81 ova recovered from 8 rats which possessed the normally developing ova) were normally developing ones which reached the morula (8 ova) or blastula (30 ova) stage.

4. From these results it was considered that ova fertilized after the second polar body fermation developed so as to reach the early stages of cleavage. Although there was a gradual increase in the number of ova which exhibited retarded development or which died, as time elapsed after copulation, some of the fertilized ova could reach the morula or blastula stage.

C. Development of embryo and parturition.

1. After normal copulation, 55 of 59 rats gave birth to young. After copulation taking place $2^1/_2$~4 hours after ovulation, 14 of 15 rats were found to have implanted ova and 31 of 35 rats gave birth to young.

Implantation of ova could be seen in 22 of 35 rats, 9 of 15 rats, and 14 of 23 rats all of which had been copulated after artificial induction of the second polar body by treatment with cold water, 0.3 % ravonal, and 0.4 % ravonal, respectively.

Rats gave birth to young were 12 of 20 rats, 10 of 15 rats, and 4 of 10 rats all of which had been treated with cold water, 0.4 % ravonal, and cold shock (ice), respectively.

Implantation of ova occurred in 17 of 20 rats treated with cold water for $^3/_4$~$1^1/_2$ hours after copulation. Then 12 of 15 rats gave birth to young.

2. Average number of embryos per female was 9.1 (4~13 embryos) among control rats which had been copulated $2^1/_2$~4 hours after ovulation.

It was 3.1 (1~7 embryos), 6.2 (2~11 embryos), and 5.4 (1~10 embryos) among rats which had been copulated after artificial induction of the second polar body by treatment with cold water, 0.3 % ravonal, and 0.4 % ravonal, respectively. The average number of embryos per female was 3.5 (1~8 embryos) among rats treated with cold water after copulation.

3. The average number of litter mates born was 10.9 (6~16 young) and 7.9 (2~14 young) among rats which had copulated normally and those which had been copulated $2^1/_2$~4 hours after ovuliaton, respectively.

It was 3.3 (1~8 young), 5.3 (2~8 young), and 2 (1~3 young) among rats which had been copulated after artificial induction of the second polar body by treatment with cold water, 0.4 % ravonal, and cold shock, respectively. The average number of litter mates born was 3.6 (1~6 young) among rats treated with cold water after copulation.

4. From the facts stated above, it was presumed that some of the ova fertilized after the second polar body formation might be implanted in the uterus and develop to young which would be born.

III. From these experimental results mentioned above, it is considered that chemical and physical stimulation of various forms to the ovum is an effective factor and that the sperm is the

best, but not an indispensable, factor for the second polar boy dofrmation in the rat.

As a results of observation on the cleavage of unfertilized ovum of the rat it is suggested that the ability of cleavage is a character of a fertilized ovum not acquired by fertilization but inherited originally. In other words, one of the important roles of the sperm in fertilization is to provide better conditions for the ovum to develop in addition to give some new hereditary genes to the chromosomes.

At present it is difficult to consider the occurrence of natural and artificial parthenogenesis in the rats.

Ⅶ. 附　　図

Explanation of Figures

I. Unfertilized ova of the rat.

Figs. 1 to 2. Ova with two types of the first polar body.

Fig. 1. 'A' type.

Fig. 2. 'B' type.

Figs. 3 to 9. Ova with different types of the second polar body induced by various kinds of treatment.

Fig. 3. Ovum with the second polar body formed one hour after cold shock treatment.

Fig. 4. 'C' type.

Fig. 5. 'A+C' type.

Figs. 6 and 7. 'B+C'type.

Fig. 8. Miscellaneous type ('B+C''). Second polar body cleaved.

Fig. 9. Miscellaneous type ('B'+C''). First and second polar bodies cleaved.

Figs. 10 to 15. Cytological observation on ova after induction of the second polar body.

Fig. 10. Ovum with condensed chromosomes 1 hour after cold shock treatment.

Fig. 11. Ovum with condensed chromosomes 3 hours after cold shock treatment.

Fig. 12. Ovum with condensed chromosomes 7 hours after treatment with 0.4% ravonal solution.

Fig. 13. Ovum with condensed chromosomes 9 hours after cold water (3～4℃) treatment.

Fig. 14. Ovum with scattered chromosomes 7 hours after cold shock treatment.

Fig. 15. Ovum with scattered chromosomes $28^{1}/_{2}$ hours after treatment with 0.4% ravonal solution.

Figs. 16 to 19. Cleavage of ova after induction of the second polar body.

Fig. 16. Ovum with a 'polar-body-like cell' 27 hours after cold shock treatment.

Fig. 17. Cleaving ovum 27 hours after cold shock treatment.

Fig. 18. Cleaving ova $27^{3}/_{4}$ hours after cold shock treatment.

Fig. 19. Ovum with multi-'unclei' at five-cell stage $28^{1}/_{2}$ after treatment with 0.4% ravonal solution.

II. Fertilized ova of the rat.

Figs. 20 to 22. Sperm-penetrated ova of rats copulated with no previous treatment.

Fig. 20. Ovum 5 hours after copulation. Sperm head unchanged and no second polar body formed.

Fig. 21. Ovum 6 hours after copulation. sperm head changing and second polar body formed.

Fig. 22. Ovum penetrated by two sperms 6 hours after copulation. One sperm head unchanged

and another sperm head changed.

Figs. 23 and 24. Sperm-penetrated ova in rats copulated after artificial induction of the second polar body.

Fig. 23. Ovum 5 hours after copulation (cold shock treatment). Sperm entering and second polar body formed.

Fig. 24. Ovum 5 hours after copulation (0.85% NaCl injection). Both second polar body and sperm can be seen in the perivitelline space.

Figs. 25 to 30. Fertilized ova in rats copulated $1\,^1/_2 \sim 3$ hours after cold water ($3 \sim 4$℃) treatment.

Fig. 25. Ovum 9 hours after copulation. Both pronuclei formed.

Fig. 26. Ovum 9 hours after copulation. Two male and one female pronuclei formed.

Fig. 27. Ovum 24 hours afteru copulation. Male and female pronuclei approached.

Fig. 28. Ovum 24 hours after copulation. Both pronuclei at syngamy.

Fig. 29. Ovum 24 hours after copulation. Two male and one female pronuclei developed.

Fig. 30. Ovum 24 hours after copulation. Immediately before the first cleavage.

Fig. 31. Ovum 24 hours after copulation (no treatment.) First cleavage.

Figs. 32 to 36. Fertilized ova in rats copulated $1\,^1/_2 \sim 3$ hours after cold water ($3 \sim 4$℃) treatment.

Fig. 32. Ova at one- to four-cell stage 48 hours after copulation.

Fig. 33. Ova at two-cell stage 48 hours after copulation.

Fig. 34. Ova at four-cell stage 48 hours after copulation.

Fig. 35. Ova at various-cell stage 96 hours after copulation.

Fig. 36. Ova at blastula stage 96 hours after copulation.

Fig. 37. Implanted ova in rat copulated after cold water ($3 \sim 4$℃) treatment.

Fig. 38. A litter from a rat copulated after cold water ($3 \sim 4$℃) treatment.

I. Unfertilized ova of the rat

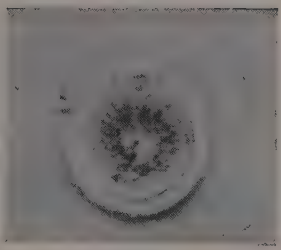


Fig. 1

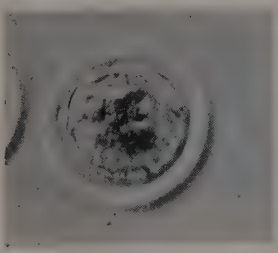


Fig. 2

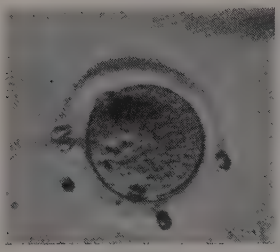


Fig. 3

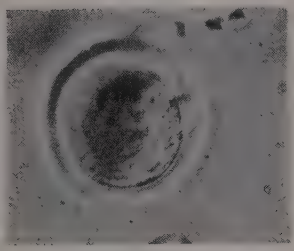


Fig. 4

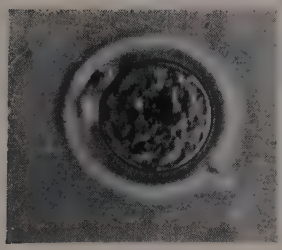


Fig. 5

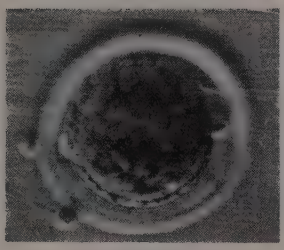


Fig. 6

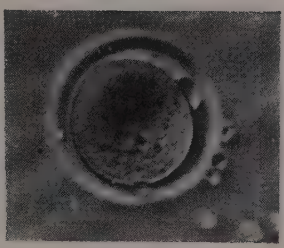


Fig. 7

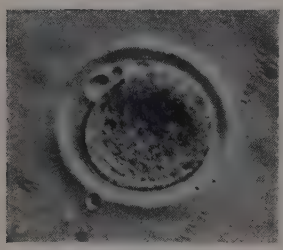


Fig. 8

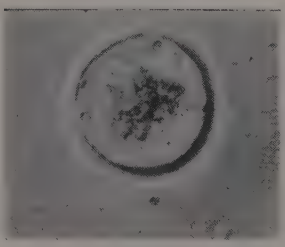


Fig. 9

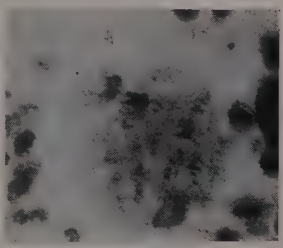


Fig. 10

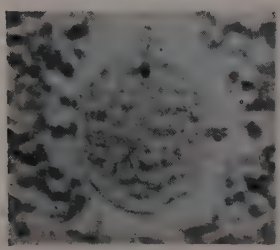


Fig. 11

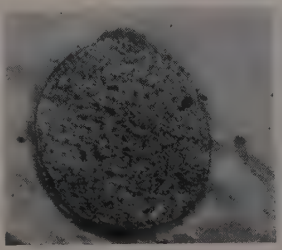


Fig. 12

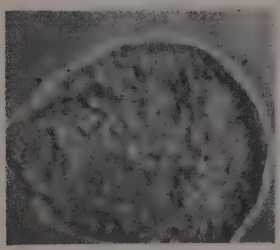


Fig. 13

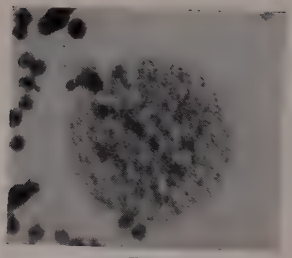


Fig. 14

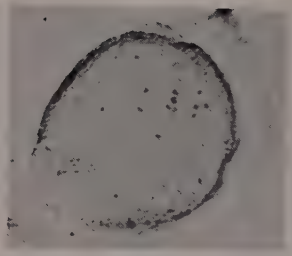


Fig. 15

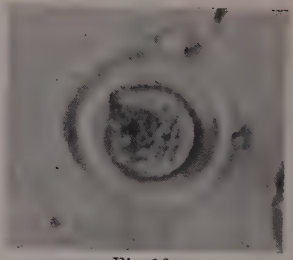


Fig. 16

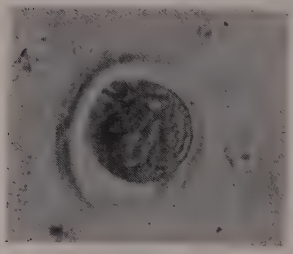


Fig. 17

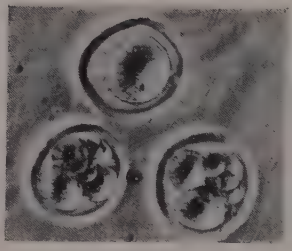


Fig. 18

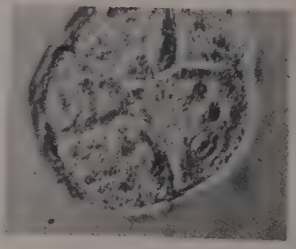


Fig. 19

Ⅱ. Fertilized ova of the rat

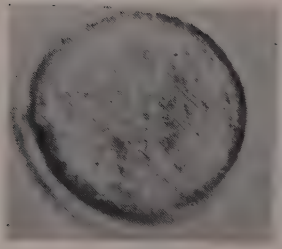


Fig. 20

Fig. 21

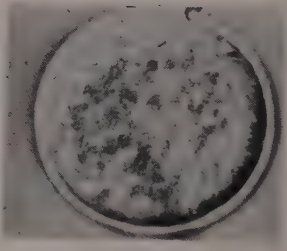


Fig. 22

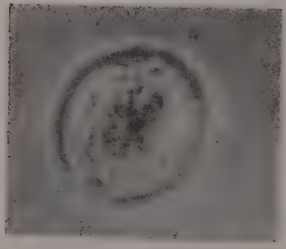


Fig. 23

Fig. 24

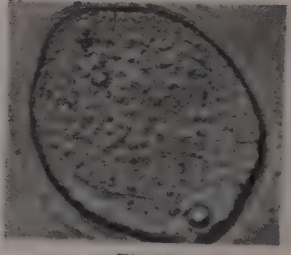


Fig. 25

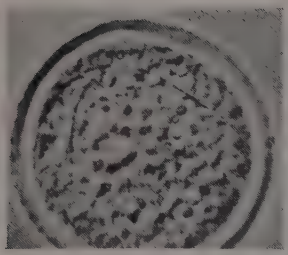


Fig. 26

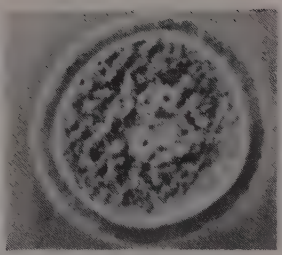


Fig. 27

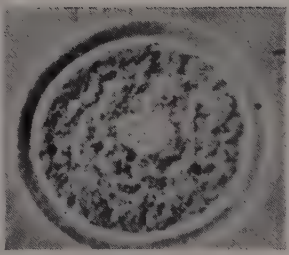


Fig. 28

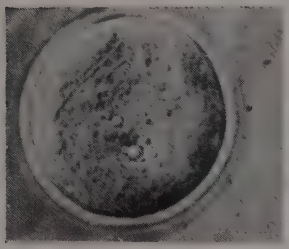


Fig. 29

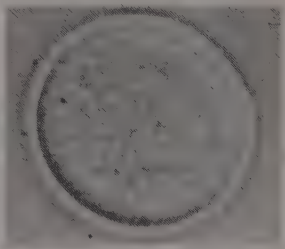


Fig. 30

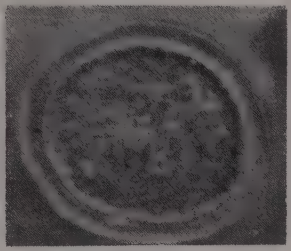


Fig. 31

Fig. 32

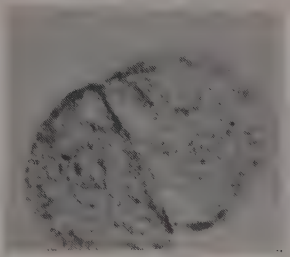


Fig. 33

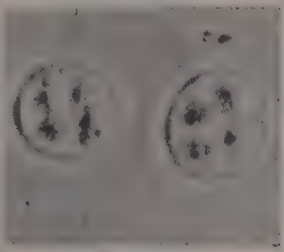


Fig. 34

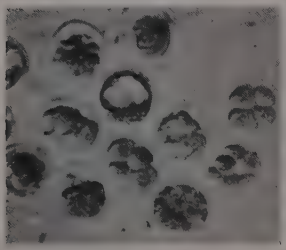


Fig. 35

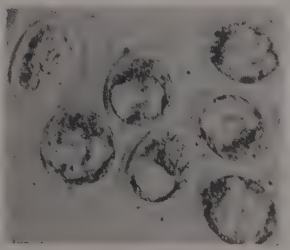


Fig. 36

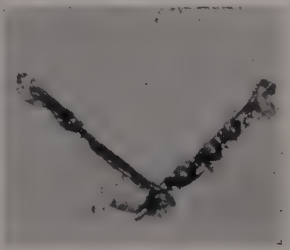


Fig. 37

Fig. 38

同馬力の単相と三相の農事用電動機の比較試験

児玉義彦・蜂岸　茂

（農業工学第一研究室）

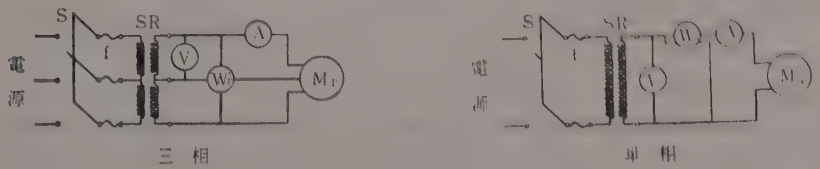
Yoshihiko KODAMA and Shigeru MINEGISHI; The Comparative Test of the Single Phase Farm Motor and the Three Phase Farm Motor on the Same Rated Horse Power.

I　まえがき

一般農家に於ては動力線（200～220 Volt）の電源を設備している家庭は少ない．従ってこれらの電灯線（100～110 Volt）の電源で電力を得なければならない．然し電灯線では最大1HP以上の動力を得ることは出来ない．然も単相で1HPの動力を得るためには反発起動形誘導電動機のような特殊な電動機を使用しなければならないのである．其処で今1HPの単相反発起動形誘導電動機と同じ1HPの三相かご形誘導電動機の性能を比較し，農業経営に於ける電力経費の参考資料を与えようとするものである．

II　実験方法

1．実験装置



S 開閉器	V 電圧計	A 電流計
f ヒューズ	WT 三相電力計	MT 三相電動機
SR 摺動変圧器	WS 単相電力計	MS 単相電動機

第1図　電気配線図

電気配線は第1図のような方法で行ない，電動機はタンク式の水馬力計によって，その動力測定を実施した．第2図参照．

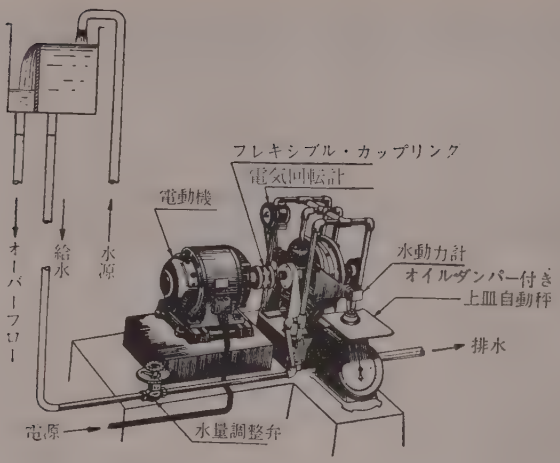
2．主な供試品

（i）単相反発起動形誘導電動機1HP，定格電圧100V又は200V，回転数1430r.p.m(50~)，又は1730 r.p.m(60~)，定格電流14A(100V,50~)又は7A(200V,50~)，極数4，起動階級B(50~)，A(60~)

(ii) 三相かご形誘導電動機1HP，定格電圧200V，回転数1410r.p.m(50~)，1650r.p.m(60~)，定格電流3.2A，極数4．

(iii) タンク式水馬力計（10IP，7,000r.p.m），附属品として8kg上皿自動計，電気回転計，其の他水をタンクへ誘導する管及び容器一式）

(iv) 三相電力計（0～4kw），単相電力計（0～4kw）各々1個．



第2図　実　験　装　置

(v)　電圧計（0～300V）1個.

(vi)　電流計（0～5A, 0～20A）各1個.

(vii)　回転計（タコメーター）

(viii)　周波数計

(ix)　摺動変圧器（0～240V）

3. 実　験　要　領

(i)　実験要領の概要

エンカー式の水馬力計の主軸に三相かご形誘導電動機（1HP）又は単相反発形電動機（1HP）を直結し，水を動力計内部の回転水ポンプ内に流す．その水量を加減することにより負荷を色々変えた場合の電動機の出力を動力計の回転数と秤の目盛りから求める．それと同時に，一方この場合の入力を電力計から読み取り，出力と入力の関係を求めた．高電圧を摺動変圧器によって，200Volt，又は100Volt に保つようにし，念の為電流計の読みも同時に測定した．

(ii)　実験に必要な諸式

$$W_2=\frac{2\pi L\times P\times N\times 9.8}{60}\ (\text{watt})$$

W_2……出力 (watt), $W'_2=\frac{W_2}{736}$ (HP)

L ……動力計の腕の長さ (m)

P ……秤の目盛 (kg)

N ……回転数 (r.p.m)

$$\eta=\frac{W_2}{W_1}\qquad \eta;\text{効率},\quad W_1;\text{入力}$$

今，三相と単相の電動機を区別する意味に於て添字に三相の場合はT，単相の場合はSを付す．即ち例えば効率の場合η_T，η_Sという風に表し，両者を混同しないようにする．

$$\mathrm{CoS}\phi_T = \frac{W_{1,T}}{\sqrt{3}\,V_T I_T} \times 100\% \quad (三相)$$

$$\mathrm{CoS}\phi_S = \frac{W_{1,S}}{V_S I_S} \times 100\% \quad (単相)$$

$\mathrm{CoS}\phi$：力率，V：電圧 (Volt)，I 電流 (Amp)

$$\mathrm{Slip} = \frac{Ne - N}{Ne} \times 100\%$$

Ne：同期速度 (r.p.m)

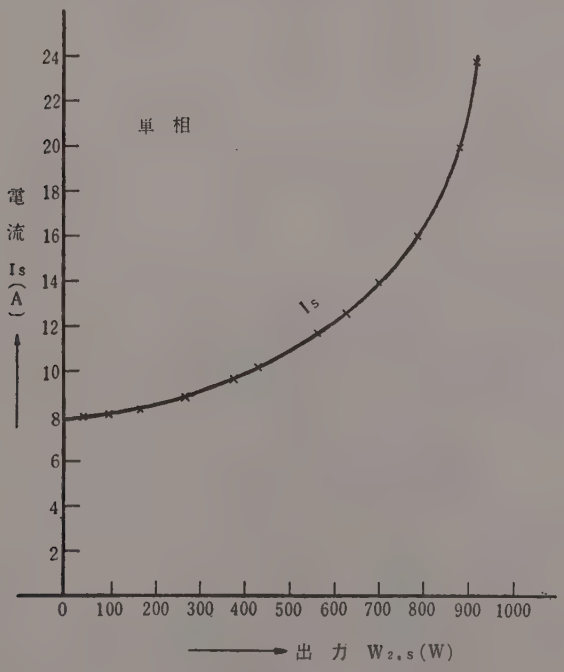
N：実際の速度 (r.p.m)

但し $Ne = \frac{120f}{p}$　　f：50cycle　　p：極数

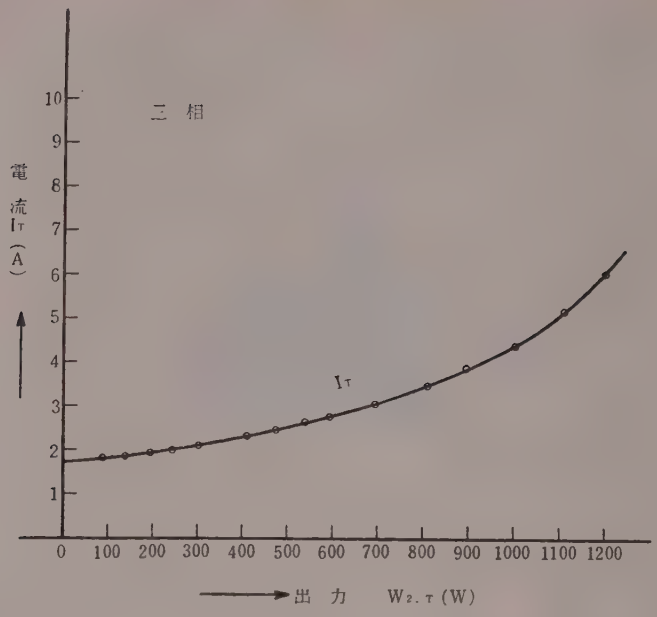
$$\tau = \frac{W_2}{9.8 \times 2\pi \times \frac{N}{60}} = 0.974\,\frac{W_2}{N}\ (\mathrm{kg \cdot m})$$

τ：トルク (kg·m)，N：回転数 (r.p.m)

Ⅲ 実 験 結 果



第 3 図



第 4 図

1. 三相（かご形）誘導電動機特性試験結果（200V, 50~）

第 1 表

入力 $W_{1,T}$ (Watt)	電流 I_T (Amp)	回転数 N_T (r.p.m)	出力 $W_{2,T}$ (Watt)	出力 $W_2',_T$ (H.P)	効率 η_T (%)	力率 $\cos\phi_T$ (%)	滑り S_T (%)	トルク τ_T (kg·m)
180	1.77	1490	87.7	0.119	48.7	29.4	0.67	0.0573
240	1.84	1479	139.3	0.189	58.0	37.7	1.40	0.0917
300	1.93	1477	195.6	0.266	65.2	44.9	1.53	0.1290
360	2.00	1470	242.3	0.328	67.3	52.0	2.00	0.1605
420	2.10	1461	301.0	0.408	71.7	59.2	2.60	0.2002
540	2.33	1450	410.0	0.557	75.9	66.9	3.34	0.2753
620	2.45	1441	475.0	0.646	76.6	73.1	3.93	0.3210
700	2.64	1430	538.8	0.732	77.0	76.6	4.66	0.3665
770	2.74	1420	593.6	0.806	77.1	81.1	5.33	0.4070
900	3.04	1407	696.0	0.945	77.3	85.4	6.20	0.4825
1060	3.45	1387	808.0	1.098	76.3	88.7	7.54	0.5675
1200	3.85	1371	895.4	1.217	74.6	90.0	8.60	0.6360
1390	4.35	1341	1003.3	1.363	72.1	92.2	10.60	0.7290
1620	5.13	1310	1110.0	1.509	68.5	91.2	12.67	0.8250
1820	6.02	1281	1203.0	1.635	66.1	87.4	14.60	0.9150

2. 単相（反発起動形）誘導電動機特性試験結果（100V, 50~）

第　2　表

入力 $W_{1,s}$ (Watt)	電流 I_s (Amp)	回転数 N_s (r.p.m)	出力 $W_{g,s}$ (Watt)	出力 $W_{g}',_s$ (H.P)	効率 η_s (%)	力率 $Cos\phi_s$ (%)	滑り S_s (%)	トルク τ_s (kg·m)
180	7.90	1495	37.0	0.050	20.0	22.8	0.33	0.0241
248	8.03	1492	96.6	0.131	38.9	30.8	0.53	0.0631
322	8.26	1490	166.7	0.226	51.7	39.0	0.67	0.1090
418	8.80	1487	266.8	0.362	63.9	47.5	0.87	0.1747
544	9.57	1480	375.1	0.510	69.0	56.8	1.33	0.2467
608	10.08	1477	430.0	0.585	70.8	60.3	1.53	0.2838
780	11.60	1465	560.8	0.762	71.8	67.2	2.33	0.3730
866	12.45	1457	626.0	0.850	72.3	69.6	2.87	0.4180
978	13.79	1440	699.3	0.950	71.5	70.9	4.00	0.4730
1128	15.80	1420	786.0	1.067	69.6	71.4	5.34	0.5400
1347	19.70	1381	878.0	1.193	65.2	68.4	7.94	0.6190
1570	23.50	1344	914.0	1.242	58.2	66.8	10.40	0.6620
1650	—	1300	922.0	1.253	55.8	—	13.34	0.6910
1317	—	1252	855.0	1.162	65.0	—	16.53	0.6650
1041	—	1200	735.0	0.998	70.9	—	20.00	0.5970
1073	—	1147	735.0	1.023	70.1	—	23.52	0.6400
1226	15.20	1025	821.0	1.115	66.9	80.7	31.65	0.7810
1314	16.30	950	847.0	1.151	64.5	80.6	36.64	0.8680
1640	21.50	774	871.0	1.183	53.1	76.3	48.40	0.9800

以上の結果をプロットすると第3図，第4図，第5図（次頁）の結果になる．

Ⅳ あ と が き

1．全般に諸性能は単相よりも三相の方がすぐれている．即ち同じ出力に対し三相は単相よりも入力が少なく，力率，効率共にまさっている．そして三相は規定負荷の1.8倍を越えた超過負荷に耐えるに反し，単相は規定負荷をこえた少しの所で超過負荷に耐えないことである．

2．同じ出力に於ては単相の方が40watt位三相よりも入力を多く費やしている．

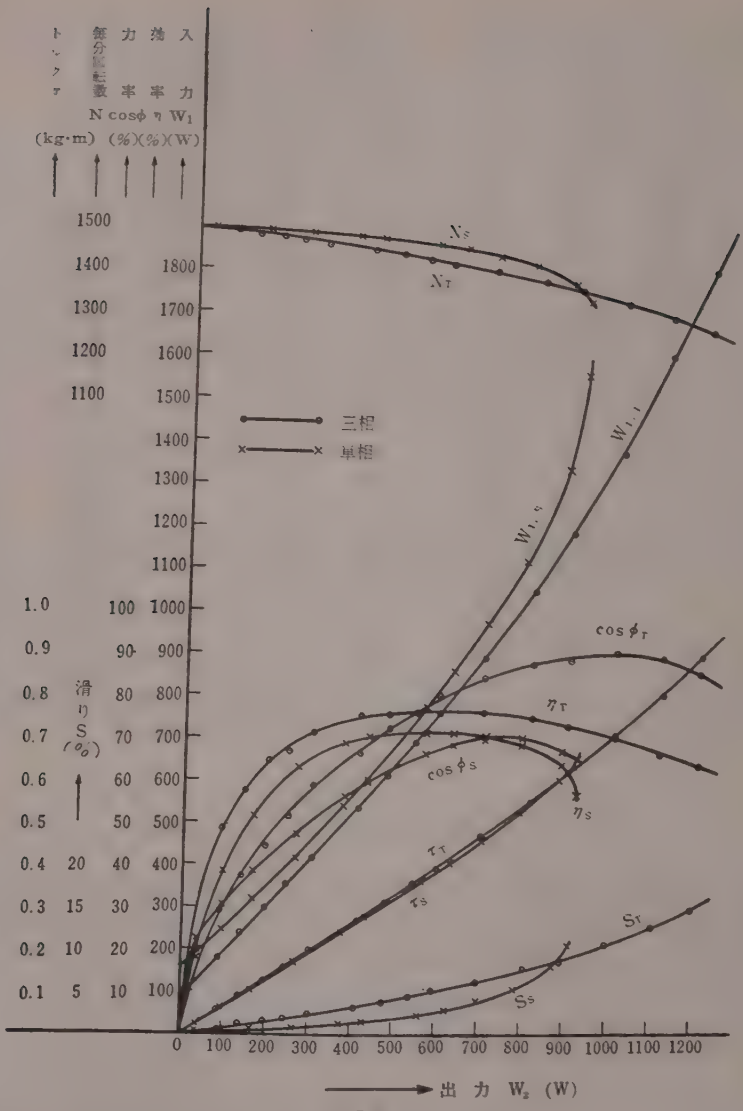
3．効率は750watt の所で7％位三相電動機の方が単相電動機よりも高い．

4．回転数は何れも4極なので同期速度は同じである．単相の方が750watt の所で300r.p.m 高いが，800watt の所で三相と一致し，以下その低下が甚だしくなる．これは基より単相電動機が超過負荷に対して耐えられないからである．

5．力率は定格出力に於て単相の方が三相よりも15％低い．

6．スリップは単相の方が三相よりややすぐれている．

7．トルクもどの出力に於ても三相の方が単相よりもすぐれている．



第5図

当地に於ては規定 50 cycle が低下したりすることがあるので，常に周波数計を取り付けて有なった．又電圧低下に対しても摺動変圧器を用いて常に規定電圧を保つようにした．一般の農家においては呼称 1 HP の電動機であれば三相電動機も単相電動機も同一性能を有するとのみ思っている人が多いので，本実験を行い両者の性能の差異を明らかにした．これが電動機購入，選択の資料ともなれば幸甚の至りである．最後に本実験に関し，実験用電気計器をお世話下さった千葉大学農工学部電気工学科の志垣直俊氏に感謝する．

主な参考書

1. 児玉義彦：三相電動機を単相運転（蓄電器装着）した場合の特性曲線，農業機械学会誌，第17巻1号（昭30.8）
2. 電気学会編：電気工学ポケットブック（ジュニア版）
3. 尾本義一，横田弥三著：新制電気実験
4. 電気学会編：電気学会大学講座一電気機械工学第3巻
5. 日野栄治著：三相誘導電動機
6. 東京教育大学農業工学教室編：農業工作
7. COOK, SCRATION MCCOLLY : Farm Mechanics. Test and Hand Book.
8. J. P. NED : Electrical engineering fundamentals.
9. P. MOON, D.E Spencer : Foundations of electro-dynamics.
10. LIBBY, C. C : Motor Selection and Application.
11. CARR, L. H. A : Testing of Electrical Machines.

Summary

We have obtained the following results by our comparative test of the single-phase farm motor and the three-phase farm motor on the same rated horse power and their values are shown in the 5 th fig.

(1) The single-phase repulsion start induction motor is inferior to the three-phase inductionmotor on every characteristic curves.

(2) If one represents the input of the single-phase repulsion start induction motor by $W_{1,S}$, and that of the three-phase induction motor by $W_{1,T}$, then, we have the next result.

The consumption of $W_{1,S}$ is about fifty watts more than that of $W_{1,T}$ on the same output.

(3) If one represents the efficiency of the single-phase repulsion start induction motor by η_S, and that of the three-phase induction motor by η_T, then, we have the next result.

η_T is seven percent higher than η_S on one horse power.

(4) If one represents the power factor of the single-phase repulsion start induction motor by $\cos\phi_S$, and that of the three-phase induction motor by $\cos\phi_T$, then, we have the next result.

$\cos\phi_T$ is fifteen percent higher than $\cos\phi_S$ on one horse power.

(5) If one represents the torque of the single-phase repulsion start induction motor by τ_S, and that of the three-phase induction motor by τ_T, then, we have the next result.

τ_T is a little better than τ_S on the same output.

園　芸　学　科

メチルジメトンの樹幹処理に関する二三の考察*

野 村 健 一

(応用昆虫学研究室)

Ken'ichi NOMURA : Some Considerations on the Bark Treatment to Fruit Trees by Methyldemeton (Metasystox).

1. ま え が き

Dimeton (Systox), Methyldemeton (Metasystox) などの浸透殺虫剤は，散布のみならず樹の枝幹への塗布によっても使用することができ[1]，現にわが国でも Methyldemeton は数種の果樹及ホップに対する塗布が許されている．葉面散布と樹幹処理とを比較すると，一般に後者の方が多量の薬量を要し経済的にはやや不利であるが[2]，しかし水利の便の悪いところやその他特殊条件下にあるところでは，樹幹処理の方が好都合な場面もある．このため近年果樹方面では，Methyldemeton の塗布についてかなり大きな関心が持たれるようになった．しかしこの塗布法については，適正施用量の算出方法，塗布部位（主幹か枝か），薬害などについてなお不明の点が少くない．

筆者はここ数年来これらの問題について種々実験を行い，かなりの資料を集めることができた。もとよりその中には再検討を要するものもあり，また未解明の部分も残されているが，一応全体を通じての筆者の考えをまとめるに至ったので，ここに予報的に大要を述べることにしたい．

本研究をなすに当っては，当教室の諸君とくに須藤昇吾・清水武秀両君の助力によるところが大きく，また化学分析については東京大学薬学部入江昌親・浜田昭両氏の御援助を仰いだ．ここに明記して感謝の意を表する．

2. 塗布量について

適正塗布量の算出は，従来は便宜的に幹枝周を基準とする方法が多く採用されてきた[6]．例えば幹枝周 1 cm につき原液 0.1cc を投与するといった要領である（枝周 20cm の枝なら施用量は 2 cc となる）．しかし，主幹・主枝・亜主枝の別なく，一律にこの方式をあてはめようとすることは無理である．いま第1図のような樹を想定し，この樹に対する適正塗布量Xをどの部分に与えるかを考えてみよう．第1図の説明にあるように，果樹では一般に

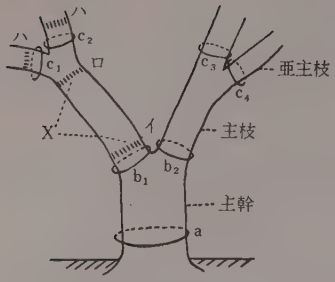
$\Sigma c > \Sigma b > a$ （モモでは大略 2.1 : 1.5 : 1 となる）

なる関係があるから，幹枝周 1 cm に対し何 cc 施用すべきか，その基準は枝種によってかなり相違することになる。また次に，仮に枝種別に基準を設けたとしても，枝周と枝体積とは比例しないから，後述する枝体積基準の考え方からいえばまずいことになる．

次に葉数に応じて塗布量を算出する案もあるが[4]，これは実際問題として煩雑である．また葉数は時期によってかなり変化するもので，ここにも問題があると思う．

上とは別に田中[4]は植物体重（幹枝葉体重）に応じて塗布量を算出すべきであると説いたが，これは理論

* 浸透殺虫剤に関する研究X



第1図　主幹周・主枝周・亜主枝周の関係を示す果樹模式図．一般に $c_1+c_2+c_3+c_4>b_1+b_2>a$ となる（3本仕立ての場合も同じ）

的に見て上記方法より一層合理的と考えられる．これもただ実際問題としては取扱い上やっかいであるので，便宜的には枝幹の体積をとる方が好都合であろう．筆者は山中の考え方をこのように変形して取扱うことにしたい．

さて，上記3方法のうち，薬数基準はしばらくおくとして，枝周基準と体積基準とを比較してみよう．枝周基準によって塗布量を定め樹幹処理を行うと，大枝になるほど殺虫効果が落ちる傾向がある（第1表）．また既往文献にもその例が散見される．例えば豊島[6]のリンゴでのパンディング実験（枝周1cmにつきジメトン原液0.3cc施用）によれば，幹周120cmの主幹への処理は枝周25cmの亜主枝処理に比較して著しく効果が悪い．これに対し体積基準で薬剤を与えると，枝の大小による効果差が比較的少なく，この方が枝周基準より合理的であると認められる*．また化学分析の結果も，枝周基準より体積基準の方が合理的であることを示した（第2表）．

第1表　改良メタシストックス原液を枝周単位（0.2cc/cm）でモモに塗布した場合のモモコフキアブラムシ *Hyalopterus arundinis* FAB. に対する効果（1959年6月）

枝周		指定3葉の虫数		
		処理前	1日後	6日後
処理区	6.0cm	443	65	0
	8.0	442	41	0
	15.0	656	204	0
	16.0	375	94	0
	32.0	464	492	123
無処理区		256	256	153

第2表　メタシストックス（50%乳剤）原液塗布枝（モモ）の葉中有効成分量（入江氏分析）．1，2は枝周1cm当り0.2cc塗布，3は枝体積当り塗布量が1と同じになるよう塗布量を与えたもの（1959年9月）

No.	枝周	塗布量	葉中の有効成分量	
			2日後	5日後
1	17.0cm	3.4cm	0.62ppm	0.60ppm
2	34.0	6.8	0.57	0.10
3	35.0	38.5	0.86	0.58

以上により，筆者は体積を基準にして塗布量を定める方式を支持するものであるが，しかしその細部についてはなお問題が残されている．

* これについては多数の実験例があり，後日一括して報告の予定である．

その1は，単位体積当りの適正施用量を定めること，また一々枝幹の体積を測定するのは煩雑であるから，幹枝周から換算するような便法を見出すことである．

その2は，枝幹の体積を基準にとるとしても，果して全体積が必要なのか，または表面に近い部分（外側の部分）を重要視する方がよいか，という問題である．

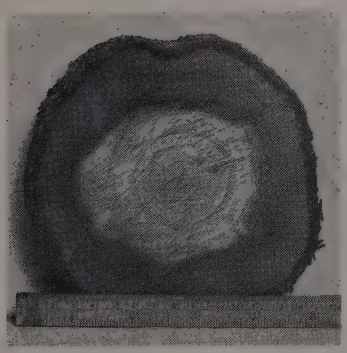
上記1はいわば運用面に関することであり，2はより根本的な問題である．1の便法については次節でくわしく述べるが，モモ・リンゴなどでは単位体積当りの適正施用量は経験的にみて枝幹体積1,000cm³につき改良メタシストックス（25%）の原液で0.6～0.7cc程度でよいと考える．これを逆にいえば，改良メタシストックスの原液（25%）1ccで約1,500～1,700cm³の体積をまかなうことになる．筆者はこれに“負担体積”なる語を用いることにし，その基準案として“1ccの負担体積1,500cm³”を提唱したい．次に2の問題であるが，これは枝幹に塗布された薬剤が枝幹のどの部分まで浸透するか，またどこを主たる通路として移行するかにかかっている．

これについてはVITE[7]など若干の文献もあるが，必ずしも明白とはいえないようである．それで筆者は前記浜田氏にお願いして，塗布処理を行ったモモ主枝の各層のMethyldemeton量を調査していただいた．

第3表　改良メタシストックス原液塗布枝（モモ，枝周21cm）の内外層各部における有効成分量（浜田氏分析）．塗布は1961年7月実施，分析は処理5日後に行われた．

枝の位置＼部位	外層部	中間部	内心部
塗布部の10cm上方	0.0ppm	0.94ppm	6.5ppm
塗布部の100cm上方	0.0	0.72	0.0

（註）外層部は外側より8mmまでの範囲，内心部は中心より直径9mmの範囲，中間部は両者の中間をさす．



第2図　モモ枝断面（直径約15cmのもの）

その結果は第3表の通りで，場所によって傾向は同一ではないが，薬剤が内部深くにまで到達することは明らかである．モモの枝の断面をみると，屢々心部に材色の変っているところがあり（第2図），当初この部分は薬剤の浸透移行に無関係ではないかと予想したのであるが，化学分析の結果ではこの部分も同じように働きをもっていることがわかった．

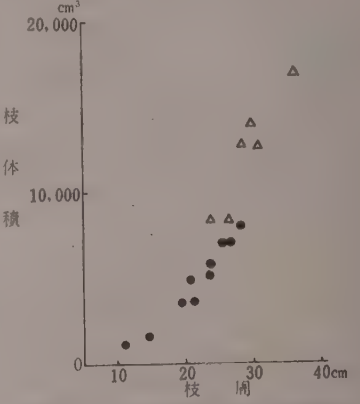
また，塗布を行ったモモの枝の塗布部上方を輪状に剝皮した実験では，その上方の葉におけるモモコフキアブラムシの死亡率が剝皮しない枝と同様の結果を示した．このことは塗布した薬剤が表皮直下のみを移行するものではないことを示すもので，上記化学分析の結果とも符合する．これらの諸事実から推して，現段階では一応枝幹の全体積を対象にするのがよく，ことさらに表層部のみを採り上げる必要を認めない．

3. 塗布量の算出法

以上述べたことを根拠にして，筆者は枝幹の体積（全体積）を基準にとって塗布量を算出する方式を支持する．しかし実際面からいうと，各枝毎に体積を計算するのは容易でないから，幹枝周によって体積を推定する方法を考えたい．しかしこれは前述の理由により，主幹・主枝・亜主枝別に取扱う必要がある．

幹枝周と体積とは，各果樹とも亜主枝においてはかなり明瞭な比例的関係を示す．幹枝周と枝長とが一定の関係を示すならば，計算によって幹枝周対体積の関係もはっきりと導き出せるのであるが，幹枝周対枝長の関係はあまり明白ではなく，結局幹枝周対体積の関係も多くの実例について経験的に求める外はない．

筆者は各種果樹について，その資料を蒐集したが，モモの場合を示すと第3図のようになり，亜主枝では仕立方・品種・樹令などにあまり係りなく案外規則的であることを知った．しかし，これが主枝になると両者間の関係はかなりばらつき，更に主幹になればこの傾向が一層著しい．



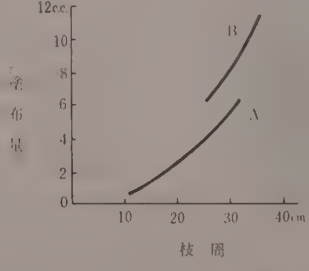
第3図　モモにおける枝周と枝体積との関係（●亜主枝，△主枝）

以上を要するに，枝幹体積を幹枝周によって推算することは，亜主枝では可能性が多いが，主枝・主幹になるにつれて誤差が大きくなる（これは主として仕立方の如何に関係がある）．主幹では，幹周対体積の関係式を求めることは，むしろ断念する方がよいくらいである．

また実際問題としても，主幹に塗布するのはロスが大きい上に，作業も楽ではないから，主枝または亜主枝への塗布を考えるべきであろう．

この場合の，枝周から適正塗布量を求める作業は，次の要領で果樹別に行われるのが妥当であろう．即ち，

(1)　まず原液1cc当りの負担体積を定める。これは前記のようにモモなどでは一応1,500cm³とすればよいと思う．ただし，樹種によっては浸透のよくないものもあるようで，こういうものでは負担体積を1,000



第4図　モモにおける改良メタシストックス原液塗布量の算出図（1ccの負担体積1,500cm³として）

A：亜主枝または主枝の上部（亜主枝分岐点直下）に塗布する場合（第1図のロ，ハを中心に塗布する場合）

B：主枝基部に塗布する場合（第1図イを中心に塗布する場合）

cm^3 またはそれ以下にする必要があろう（ミカンではその疑がある）．また特に長い残効を期待する場合には，それに応じて負担体積を減らすことはいうまでもない．

(2) 亜主枝の場合は，実績に基いて枝周対体積の関係を求めればよい．これに前記(1)をおりこめば，枝周対塗布量の関係グラフが得られる（第4図A）．

(3) 主枝の場合には，第1図X部の体積が全体の何%を占めるか，その平均値を算出し，これを基礎として(2)のカーブより計算によって枝周対塗布量のグラフを求める（第4図B）．

上記の方法により，モモについて試作したものが第4図である．

4. 薬害について

改良メタシストックス原液をミカンの枝幹に塗布すると，塗布部に薬害を起すことがあり，特に夏季は危険性が多いといわれている．樹皮がいわゆるクラッキングを起し，ひどい時にはその悪影響が上方の葉や果実にもおよぶ[4]．リンゴでもデリシャスには軽微な薬害を出すことがある．

これら薬害問題については，また別な機会に詳述したいと思うが，筆者の見解では枝幹表皮の単位面積当りの塗布量が最大要因であり，これをうまく処理すれば上記薬害も著しく緩和されると考える．筆者の実験によれば，表皮面積 100cm^2 につき原液 0.6cc 程度の施用量であれば，夏季ミカンに塗布しても大体異状はないようである*．

この塗布量（0.6cc/100cm^2）は，薬剤を引伸す要領でうすく塗布した時の施用量にほぼ一致する（第4表）．逆にいえば，薬害防止の観点からすれば上記塗布量を与えるに際し，二度塗りをさけ引伸し塗布を実行すべきである．

第4表　改良メタシストックス原液を引伸して塗布した場合の樹皮表面積 100cm^2 当りの所要量（1960年7月）．各区とも3枝の平均を示すが，各枝毎の誤差は最高11%で，他はいずれも10%以下であった。

供試樹	枝の角度	塗布者 A	塗布者 B	塗布者 平均
モッコク（樹皮のなめらかな例）	垂直	0.56cc	0.52cc	0.55cc
	水平	0.55	0.49	0.52
モミジ（樹皮の荒い例）	垂直	0.74	0.63	0.68
	水平	0.75	0.82	0.78

過去においてミカンで著しい薬害を出した例は，大部分が枝のまたになったところで，ここに薬液がたまり薬害が誘発されたものと推察される．実験的には原液 1 cc/100cm^2 で屢々薬害を出しているが，これは普通の枝に対し1回の塗布で与え得る薬量のほぼ限界である．これ以上を与えると薬液は流れ落ちるわけで，下方の枝幹に相当多量を塗布した場合には，下部のまたのところに薬液がたまることが屢々である．この部分の薬量は 1 cc/100cm^2 以上のはずで，顕著な薬害をあらわすのも無理からぬことである．また二度塗り，即ち乾いたところに更に塗布することも，薬害防止の上から避けるべきである．

* ただし九州のような高湿地帯にあつては，なお若干の問題が残る。特に直射日光を受ける枝は薬害が出やすい傾向があり，これについては更に検討の要がある．

上記のような注意をもって臨めば，原液塗布による薬害発現も殆んど回避し得るものと考える．ミカンでは薬害防止のために原液を3倍程度に水で稀釈して塗布する方法もとられているが（広島県），塗布液の絶対量が多くなれば塗布面積も増大し，労力的にはそれだけ負担が多くなる．なるべく原液かそれに近い濃厚液を用い，それの引き伸ばし塗布を行うことによって薬害問題が解決できるならば，労力的にも資材的にも甚だ好都合であろう．ただし，九州のような高温条件の地帯では，上の方法（引き伸ばし塗布）をもってしてもなお若干の危惧があり，これらの特殊地域に対しては施用時期或は施用時刻を工夫するようなことも合わせ考えるべきであろう．

5. 総括および今後の課題

上記各項を総合していけば，塗布法の基準要綱は大体形づくられることになると思う．即ち，

(1) 塗布は原則として亜主枝に，即ち第1図ハの部分を中心として行われることが望ましい．小樹では主枝または主幹に行ってもよいが，成木では亜主枝（または亜主枝分岐点直下の主枝部）に塗布するのが経済的に有利である．

(2) 塗布量は，その枝の体積に応じて加減されるのが合理的である．モモ・リンゴなどでは改良メタシストックス原液1ccの負担体積を1,500cm³とすれば大過ないと考える．

(3) 枝体積を一々計算するのは煩雑であるから，枝周から体積を推算し，これに上記(2)をおりこんで行えば便利である（第4図）．この方法の適用も，亜主枝をとれば比較的誤差が少く，主枝・主幹はかなり誤差が入る．この点からも亜主枝への塗布をおしたい．

(4) 薬害防止の見地から，枝皮の単位面積当りの塗布量も考慮すべきで(特にミカンにおいて)，樹皮表面積100cm²を原液0.6ccで塗布する程度の引伸し塗布を勧奨したい（薬液を引伸す要領で塗布すれば大体この程度になる）．

以上の方法によって塗布すれば，アブラムシ・ハダニ類に対する防除効果も一応満たされ，かつ薬害の危険性も殆んどないものと期待される．ただし，(2)の負担体積については，各樹種についてもう少し検討する必要があるように思う．樹皮の如何によっては浸透のよくないものもあり，これは樹種によって相違するばかりでなく，樹令なども若干関係するようである．

将来，塗布法が更に実用化される場合を予想すると，(3)の方法をもってしても，枝毎に塗布量を算出して塗りわけることはあまり実際的ではない．より簡便に適正塗布量を与える方法が，強く要望されることになろう．これについては，現在検討中であるが，一つの見通しとしては塗布する長さを規定することによって目的を達し得るものと考えている．先述の引伸し塗布が，大した誤差なく0.6cc/100cm²前後に落着くと仮定するならば，その枝に与えらるべき塗布量より塗布面積が導き出せることになる．この塗布面積は，“枝周×塗布長”に外ならないが，多数枝（亜主枝）について計算してみると，この場合の塗布長は枝周とほぼ似た値をとる（負担体積1cc/1,500cm³として）．換言すれば枝直径に対し3～4倍の長さに塗布すればよいことになる．負担体積が変った場合には，それに応じて塗布長を加減すればよい．

これは簡易塗布法についての1試案であるが，このほか実際問題としては更にいろいろな懸案がある．仮に上記の方法が可能であるとしても，枝の表裏に一様に塗布するのは作業上やりにくい場合があり，枝の片面のみの塗布（塗布長は長くなる）で差支えないかどうか，これらについても検討される必要があろう．

現在，樹幹処理はその効果が認められながらも，案外普及の程度が低い．その原因はいろいろあろうが，

技術的な面ではある場合には塗布量算出の困難性が挙げられ，またある時には薬害が挙げられ，問題点は一見別々のように見える．しかし上記のように総合的に考察し，更にこれに塗布の厚さ（単位面積当りの塗布量）を加味して考えるならば，すべての問題が統合され全体的に解決される可能性があると信ずる．その故に上記簡易塗布法についても，筆者は少なからぬ期待を持つものである．

文　　献

1) JEPPSON L. R. et al. : J. Econ. Ent., 45 (4), 1952.
2) 野村健一：浸透殺虫剤の使い方（日本植物防疫協会刊），1957.
3) ——：農業講座　第2巻のうち（朝倉書店），1961.
4) RIPPER, W. E. : Advances in Pest Control Research. Vol. 1, p. 305～352, 1957.
5) 田中学：応動昆第1回シンポジウム講演討論要旨，p. 47～52, 1957.
6) 豊島在寛：同上，p.41～47, 1957.
7) VITÉ, J. P. : Höfchen-Briefe, No. 2, 1957.

Summary

In this paper the author will discuss some problems concerning the bark treatment or painting to fruit trees with methyldemeton (Metasystox) in order to establish a rational painting method.

The important matters in this problem are summarized as follows.

1. Painting had better be done on middle branches rather than trunks, by reason of economization of the insecticide.

2. The dose of the insecticide ought to be determined by the volume of branch to be treated. As the standard dose the author recommends 0.6～0.7 cc Metasystox (i) per 1,000 cm^3.

3. In many cases there is high correlation between the round length of branches and their volume. Therefore the suitable dose to be given can be inferred from the round length of branch. (Fig. 4)

4. The thickness of insecticide painted on barks is an important matter in view of phytotoxicity. The upper limit of safe thickness has been observed as 0.6 cc/100 cm^2 in the experiments of orange trees. Light painting is convenient, for in this way resultant thickness of Metasystox (i) on bark treated is usually about 0.5～0.6 cc/100 cm^2.

5. The author suggests a practical method of bark treatment, namely, light painting to branch in the area of 3～4 times length of branch diameter based on various considerations mentioned above.

ナシ・リンゴ花内の遊離アミノ酸について

大野正夫・高橋英吉・中井滋郎・河野喜幸

（果樹園芸学研究室）

Masao OHNO, Eikichi TAKAHASHI, Jiro NAKAI and Yoshiyuki KAWANO :
On Some Kinds of Free Amino Acid which were Involved
in Pear and Apple's Flower.

I. 緒　　言

花の各部分に含まれる遊離アミノ酸はその生理に重大な役割を果しているものと考えられる．ナシの花について猪瀬[2,3]（1959）は早生赤花粉には alanine, asparagine, aspartic acid, glutamic acid, glutamine, glycine, histidine, leucine, methionine, proline, tryptophan, valine などを検出している．沢田（1958～60）は寒天，蔗糖の発芽床では発芽困難な植物（ユリ科植物[6]，ネコヤナギ[10,17]，イネ[9]，トウモロコシ[7,11]，カボチャ[14]）花粉を材料として，発芽床に各種のアミノ酸を単独または複合の形で培地して，その発芽を著しく促進したこと，さらに，それら材料植物の花の各部分についてアミノ酸の時期的な消長を調べ，花が成熟するにつれて，とくに雄性器官にその含量の増加することを認め，結実作用にアミノ酸が重大な関係をもつと述べている．

著者[5]は花粉の発芽床にグルタミン酸ソーダを添加し，ナシ，カキ，リンゴについて，その花粉の発芽率を高め，花粉管伸長を促進することを認め，2，3の応用試験を行ない，グルタミン酸ソーダが結実を高めるのに有効であることを知ったが，花粉の生理に関与するアミノ酸には数種のものが考えられるので，ここに先ず，ナシ，リンゴの花を材料として，花内のアミノ酸検出を行なうこととした．以下その結果を報告する．

II. 実験材料および方法

実 験 材 料

a　ナ　　シ

松戸市千葉大学園芸学部付属農場果樹園植栽のナシ長十郎11年生樹から，開花当日に未開裂の葯をあつめ，その一部は室温下で開葯させ，花粉をふるいわけしてあつめ，葯，花粉に含まれる遊離アミノ酸の検出を行なうことにした．なお資料は次の区分をとった．

No.1：対照無処理，No.2～No.4は前年の9月15日，30日の2回，ヨーゲン，硼砂溶液の葉面散布を行なっておいたもので，No.2：0.25% ヨーゲン1号（N44%），No.3：0.25% ヨーゲン2号（N33%，P10%，K10%），No.4：100ppm 硼砂溶液散布をなしたものである．1樹に4区を設け，環状剝皮処理は行なわなかった．自然落葉は10月下旬であった．

b　リ　ン　ゴ

沼田市千葉大学園芸学部付属利根高冷地農場植栽の12年生旭の発育良好樹から，開花当日に中心花と側花別に未開裂の葯をもつ花をあつめ，先ず，葯，花柱，花托に分け，一部の葯は人工開葯させて花粉をとり，

材料とした．

別の樹から1花叢の着花数6以上の花と，4以下の花とを別々にあつめ，上述同様の部分に分けて分析に供した．

実 験 方 法

アミノ酸の検出はペーパークラマトグラフィによった．検出にあたり，まず花粉は0.5gにエチルアルコール2mlを，葯，花柱，花托は各1gにアルコール4mlを加え，乳鉢で磨砕し，これを沪過し，クロロホルムを加え振とうし，上層に分離した含水アルコール液をとり，40℃以下で減圧乾燥し，これに0.1mlのイオン交換樹脂による蒸溜水を加えた．その溶液0.005mlをミクロピペットでとり，20cm平方の東洋沪紙No.50の1隅につけ，含水フエノール（85%）およびブタノール，酢酸，水（4：1：1）による二次展開を行なった．展開は常法により，25℃で静置乾燥後，発色には0.02%ニンヒドリンブタノール溶液を用い，アミノ酸の種類を調べた．一方人工発芽床による材料花粉の発芽試験も行なった．

Ⅲ. 実験成績ならびに考察

A. ナシ・長十郎

1. 花粉および葯内の遊離アミノ酸

ペーパークラマトグラフィ二次展開を行なって調べたところ，その結果は第1表のとおりである．

第1表 ナシ・長十郎の花粉・葯に含まれる遊離アミノ酸の種類（1961）

材料区分	花粉				葯			
資料区分	No.1	No.2	No.3	No.4	No.1	No.2	No.3	No.4
アミノ酸の種類 ＼ 処理別	対照	ヨーゲン1号	ヨーゲン2号	硼砂	対照	ヨーゲン1号	ヨーゲン2号	硼砂
alanine	++	+	++	+	+	++	++	++
arginine								
asparagine	++	+	+	++	+++	+++	+++	+++
aspartic acid	+	+	+	+	+	++	++	++
cysteine								
glutamic acid	++	+	+	+	++	+++	+++	++
glutamine	+	++	++		+	++	++	++
glycine	+	+	+	+	+	+	++	+
histidine		±			+	+		++
hydroxylysine								
hydroxyproline								
isoleucine								
leucine		±				+	+	+
lysine								
methionine		±			+	+	+	+
phenylalanine								
proline					+	++	+	+
serine								
threonine	+	+	+	+	+			
tryptophan		±			+	+	+	

アミノ酸の種類 ＼ 材料区分 / 資料区分 / 処理別	花粉				葯			
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.1	No.2	No.3	No.4
	対照	ヨーゲン1号	ヨーゲン2号	硼砂	対照	ヨーゲン1号	ヨーゲン2号	硼砂
tyrosine								
valine						＋		＋

（註） ± 発色程度うすく，わずかに存在することを認める程度
＋ 発色程度はややうすいが存在を明らかに認めうる
＋＋ 発色程度はやや濃く，存在を確実に認める
＋＋＋ 発色程度濃く，またスポット大にして明確に存在を認める

ナシの花粉には alanine, asparagine, glutamic acid, glutamine が比較的多く，その他に aspartic acid, glycine, threonine を，またわずかに histidine, leucine, methionine, tryptophan の計11種を認めた．葯には alanine, asparagine, aspartic acid, glutamic acid, glutamine がとくに明瞭に認められ，glycine, histidine, leucine, methionine, tryptophan, threonine も認められ，その他に proline, valine の計13種を認めた．

これらのアミノ酸の種類は猪瀬[3](1959)がナシ早生赤で認めたものと同様であったが，発色が明らかで，スポットの大きい alanine, aspartic acid, asparagine, glutamic acid の存在は花粉の発芽現象に関係するところが多いのではないかと考えられる．沢田（1958～60）は寒天，蔗糖の人工発芽床上で発芽困難なユリ[6]では alanine, aspartic acid, glutamic acid を添加すると発芽が促進され，イネ花粉[9]では alanine, glycine, leucine, tryptophan が，トウモロコシ花粉[7]では aspartic acid, glutamic acid, methionine などが有効であったとしている．柳田[19](1961)はクロコウジカビの胞子は糖および無機窒素源などを主成分としたきわめて簡単な合成培地では出芽がきわめてわるいが，アラニンを添加した場合に出芽が著しく多くなることを観察している．カビの胞子も花粉も単細胞であり，その出芽あるいは発芽の機構に共通したところが多いと考えられ，興味がある．

2. グルタミン酸ならびにグルタミン酸ソーダ溶液添加によるナシ花粉の発芽

資料花粉の一部を，人工発芽床で発芽試験した成績は第2表のとおりであった．

第2表 アミノ酸添加がナシ長十郎花粉の発芽におよぼす影響(1961)

添加区分 ＼ 項目	調査花粉数	発芽数	発芽率	同比数	花粉管長*
対照・無添加	623	297	47.7%	100	× 9.9
蒸溜水添加	603	266	44.1	93	× 9.2
10ppm グルタミン酸添加	765	646	84.4	177	×10.8
10ppm グルタミン酸ソーダ添加	1,056	876	83.0	174	×10.2

（註） * 花粉管長は視野中の最長のものの平均値を，粒径の倍数で示す．
葯採収4月12日，花粉採収14日，同日発芽試験，20℃ 4時間で固定

すなわち，グルタミン酸ならびにグルタミン酸ソーダ10ppm溶液の添加によって発芽は著しく促進された．

花粉，葯中には glutamic acid, glutamine などを比較的多く含み，花粉の発芽に関係をもつものと考え

られるが，これらの人為的補給が発芽を促進したところから，人工授粉の場合にその応用が検討されてよいであろう．

B. リ ン ゴ・旭

1. 花粉・葯・花柱・花托内の遊離アミノ酸

リンゴ・旭の花は中心花がまず咲き，次で上位の側花が咲き，下方側花におよぶ．そこで中心花と側花とにわけて花をあつめ，その各々から，葯，花柱，花托をとり，一部の葯から開葯，噴出した花粉をとって，ペーパークラマトグラフィによって検出した遊離アミノ酸は第3表に示すとおりであった．

第3表　リンゴの花の各部分に含まれる遊離アミノ酸の種類(1961)

花の部分 / 花の区分 / アミノ酸の種類	花粉		葯		花柱		花托	
	中心花	側花	中心花	側花	中心花	側花	中心花	側花
alanine	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋			＋	＋
arginine	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋			＋	＋
asparagine	＋	＋	＋＋	＋＋			＋	＋
aspartic acid			＋	＋	＋	＋	＋	＋
cysteine								
cystine								
glutamic acid	±	＋	＋＋	＋	＋	＋	＋	＋
glycine		±						
histidine								
hydroxylysine								
hydroxyproline								
isoleucine								
leucine	＋＋	＋＋						
lysine								
methionine	＋＋	＋＋						
phenylalanine	＋＋	＋＋						
proline								
serine	＋＋	＋＋	＋	＋＋				
threonine	＋	＋						
tryptophan								
tyrosine								
valine	＋＋	＋＋						

花粉と葯には比較的アミノ酸の種類が多く認められたが，花柱，花托では少なかった．また中心花と側花とでは差異がほとんど認められなかったが，これは無作為に花をあつめたところに原因するかとも思われる．

花粉には alanine, arginine, asparagine, glutamic acid, leucine, methionine, phenylalanine, serine, threonine, valine の10種を認めた．

葯には alanine, arginine, asparagine, aspartic acid, glutamic acid, serine を認めた．

花柱には aspartic acid, glutamic acid の2種のみを，花托では葯と同種類のアミノ酸を認めたが serine のみはみられなかった．

雄性器官の花粉と葯，雌性器官の花托に共通のアミノ酸は alanine, arginine, asparagine, glutamic acid,

aspartic acid であった。これらのアミノ酸は花の生殖生理に関係のふかいもののように思われる。

2. 花叢着花数を異にする花のアミノ酸　短果枝花芽からの花叢花数にはかなり変異が認められ，着花の多いものと少ないものとがある．これには栄養条件がかなり影響しているものと考えられる．そこで，花叢着花数6以上の花と，4あるいはそれ以下の数のものと別々にあつめ，まず花粉の発芽試験を行なったところ，第4表に示すとおりであった．

第4表　着花数を異にする花粉の発芽状況（旭）(1961)

着花数による区分 ＼ 項目	調査花粉数	発芽数	発芽率	同比数	平均花粉管長
着花数6以上の花の花粉	831	586	71.0%	100	×13.8
着花数4以下の花の花粉	774	375	48.5	68	×10.3

（註）花粉管長は花粉粒径の倍数で示す．
葯採収5月7日，花粉採収5月9日，発芽試験5月10日，2.5時間で固定

着花数の多い花叢の花に花粉の発芽力がすぐれていた．

次いで，着花数を異にする花の花粉，葯，花柱，花托の遊離アミノ酸の検出を行なった．その成績は第5表に示すとおりである．

第5表　花叢着花数の多少による旭の遊離アミノ酸の種類(1961)

アミノ酸の種類 ＼ 区分 ＼ 花の多少	花粉 多花	花粉 少花	葯 多花	葯 少花	花柱 多花	花柱 少花	花托 多花	花托 少花
alanine	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	±	＋＋	
arginine	＋＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋		＋＋＋	
asparagine	＋＋	＋	＋＋	＋＋	＋＋		＋	
aspartic acid			＋	±	＋＋	＋	＋	＋
cysteine								
cystine								
glutamic acid	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋
glycine	＋	＋	＋					
histidine								
hydroxylysine								
hydroxyproline								
isoleucine								
leucine	＋＋	＋＋	＋					
lysine								
methionine	＋＋	＋＋	＋					
phenylalanine								
proline								
serine	＋＋	＋	＋	＋	＋＋	＋	＋	
threonine	＋		＋	±	＋			
tryptophan					＋	＋		
tyrosine								
valine	＋	＋＋	＋					

（註）多花とは花叢着花数6以上のもの
少花とは　〃　4またはそれ以下のもの

花叢着花数の多少と遊離アミノ酸含量との間に明瞭な差異を認めたのは葯，花柱，花托であるが，花粉についてみると，多花のものは少花のものより arginine, asparagine, serine がやや多く，threonine は少花のものには認められなかった．

花粉の発芽に関係するものに糖，蛋白質の質量的なものがあるので，遊離アミノ酸のみで結論することはできないが，上述のアミノ酸の含量の高かったことも一因をなすのではないかと考えられる．

3. 2，3のアミノ酸添加がリンゴ花粉の発芽におよぼす影響

リンゴ旭花粉を用い，人工発芽床に2，3のアミノ酸を添加し発芽試験を行なった．とりあげたアミノ酸は alanine, aspartic acid, glutamic acid である．その成績は第6表に示すとおりであった．

第6表　2.3のアミノ酸添加によるリンゴ旭花粉の発芽状況 (1961)

添加区分＼項目	第1回実験 調査花粉数	発芽数	発芽率 %	同比数	花粉管長	第2回実験 調査花粉数	発芽数	発芽率 %	同比数	花粉管長
対照・無添加	1,063	99	9.3	100	×2.1	759	98	12.9	100	×2.1
5ppm グルタミン酸ソーダ	889	386	43.4	466	×5.4	685	186	27.2	220	×4.4
5ppm アラニン	948	423	44.6	480	×7.4	536	192	35.8	278	×6.7
5ppm アスパラギン酸	872	250	28.6	308	×5.2	751	250	33.3	258	×5.7

（註）葯採収5月6日，花粉採収5月9日，発芽試験5月18日，20℃6時間で固定，平均花粉管長は粒径の倍数で示す．

対照区の発芽率はきわめて低かったが，これは葯を採収してから花粉を得るまでにきわめて長時間を要し，花粉の活性を低下させていたことに原因すると思われるが，発芽床に alanine 他2種のアミノ酸を添加した場合の発芽率は著しく促進され，花粉管の伸長も良好であった．このことから，花粉に検出されるこれらのアミノ酸は発芽に重要な役割を果しており，これを人為的に補給することは，活性度の低い花粉で人工授粉する場合に結実を良好にするものと考えられる．

Ⅳ. 摘　　要

ナシ・長十郎，リンゴ・旭の花粉，葯，花柱，花托に含まれる遊離アミノ酸の種類をペーパークラマトグラフィによって検出し，花粉の発芽との関係を調査した．

1. ナシ花粉には alanine, asparagine, aspartic acid, glutamic acid, glutamine, glycine, threonine の7種のアミノ酸が検出されたほか，histidine, leucine, methionine, tryntophan の痕跡も認められた．

葯にも花粉におけると同様のアミノ酸の種類が認められたが，さらに proline, valine をも認めた．

2. リンゴ花粉には10種のアミノ酸すなわち alanine, arginine, asparagine, glutamic acid, leucine, methionine, phenylalanine, serine, threonine, valine が認められた．しかし，葯，花柱，花托とくに花柱には遊離アミノ酸が少なかった．

3. 着花の多い花叢の花の花粉，葯，花柱，花托には多くの種類のアミノ酸が発見されたが，着花の少ない花叢の花のそれらには少なかった．花の栄養とアミノ酸含有量との間に関連があるようであった．

4. 花粉に発見される alanine, aspartic acid, glutamic acid のようなアミノ酸を人工発芽床に添加して，リンゴ・旭の花粉の発芽は著しく促進された．

文　　献

1) 赤堀四郎：(1950)科学の実験 1 (1)：29～33
2) 猪瀬敏郎，中村武次郎(1959)：昭和34年園芸学会秋季大会研究発表要旨 p.5
3) ——(1960)：埼玉農試果樹試験成績
4) 大野正夫，高橋英吉，平井正夫(1959)：昭和 34 年園芸学会春季大会研究発表要旨 p.3
5) ——，寺沼公士，高橋英吉(1960)：昭和 35 年園芸学会秋季大会研究発表要旨 p.1
6) 沢田義康，中谷喜昭(1958)：北，学，大，紀要(第 2 部) 9 (2)：34～41
7) ——(1958)：北，学，大，紀要(第 2 部) 9 (2)：42～48
8) ——(1958)：北，学，大，紀要(第 2 部) 9 (2)：49～57
9) ——(1959)：北，学，大，紀要(第 2 部)10(1)60～69
10) ——，長崎悟留(1959)：北，学，大，紀要(第 2 部)10(1)：70～78
11) ——(1960)：植物学雑誌，73(864)：252～257
12) ——(1959)：北，学，大，紀要(第 2 部)10(2)：123～132
13) ——(1959)：北，学，大，紀要(第 2 部)10(2)：133～145
14) ——，長崎悟留(1959)：北，学，大，紀要(第 2 部)10(2)：146～154
15) ——(1960)：北，学，大，紀要(第 2 部)11(1)：23～26
16) ——(1960)：北，学，大，紀要(第 2 部)11(1)：27～30
17) ——，平田定己，小村他家人(1960)：北，学，大，紀要(第 2 部) 11(1)：31～37
18) 信濃栄，彼谷俊夫(1958)：千，大，園，学術報告 6 ：141～145
19) 柳田友道(1961)：蛋白質，核酸，酵素 6 (3)：140～150

Summary

An attempt in relation to pollen germination of fruit trees was made to find out kinds of amino acid which were involeved in the pollen, anther, pistil and receptacle of pear (var. Chojiuro) and apple (var. McIntosh) by a paper chromatographic method.

1) In pear pollen, 7 kinds of amino acid, namely alanine, asparagine aspartic acid, glutamic acid, glutamine, glycine and threonine were found, and besides the traces of histidine, leucine, methionine and tryptophan were recognized.

In the anther, the same kinds of amino acid as in pollen were found out, and others, such as proline and valine were recognized.

2) In apple pollen, 10 kinds of amino acid were found i. e.:alanine, arginine, asparagine, glutamic acid, leucine, methionine, phenylalanine, serine, threonine and valine.

On the other hand, few kinds of amino acid were found in the anther, pistil and receptacle, especially in the pistil.

3) Many kinds of amino acid were found in the pollen, anther, pistil and receptacle of flowers in apple cluster with many flowers as compared with those with fewer flowers.

This appeared to show a relationship between flower nutrition and the amounts of amino acid content.

4)The pollen germination of McIntosh in the culture medium was much enhanced by the addition of some kinds of amino acid, alanine, aspartic acid and glutamic acid, which were found in the pollen.

農芸化学科

ポリ燐酸塩によるビタミンCの安定性について

綾野雄幸

（農産製造学研究室）

Yuko Ayano : Studies on the Effect of Poly-phosphate as a Preservative for Vitamin C.

緒言

最近，ポリ燐酸塩は食品の品質改良剤として脚光を浴びているが，果汁飲料への利用としてはビタミンCの分解抑制に大いに効果があるという．ポリ燐酸塩の添加がビタミンCの安定性に及ぼす影響については，花田等[1,2]の研究があり，人工果汁中に強化したL-アスコルビン酸の安定をはかるために，ポリ燐酸塩のうちヘキサメタ燐酸ソーダが有効であることを報告している．

著者はポリ燐酸塩が重金属イオンを封鎖し，キレート化合物を作るという性質のあることに着目し，ビタミンCの酸化を最も促進する銅イオン存在下で，ポリ燐酸塩がどの程度の安定化に役立つか．また缶詰トマト・ジュースにポリ燐酸塩を添加した場合，ビタミンCの安定性に如何に影響するかについて実験を試みたので，以下報告する．

実験の部

I 銅イオン存在下におけるポリ燐酸塩のL-アスコルビン酸の安定性に及ぼす影響

イ 実験方法

実験の基本的方法はL-アスコルビン酸（以下L-AsAと略す），ポリ燐酸塩（ミートンD，田辺製薬製），$CuSO_4$（化学用）を夫々蒸溜水或はBuffer solutionに溶解し，それらを所定量宛採取して一定量となし，直ちに第1回目の試料を採取せる後，共栓試験管に入れ，室温に放置し，定時毎に試料を採取して2,6-Dichlorophenol indophenolを用いてL-AsAの定量を行った．

ロ 実験結果

(1) ポリ燐酸塩のL-アスコルビン酸に対する安定性

L-AsA25mg%を蒸溜水に溶解した区，L-AsA25mg%，Cu^{++}25γ%，を蒸溜水に溶解した区，L-AsA

第1表 ポリ燐酸塩の添加がL-AsAの安定性に及ぼす影響（残存率%）

試験液組成 / 作用時間	L-AsA25mg% 蒸溜水	L-AsA25mg% Cu^{++} 25γ% 蒸溜水	L-AsA25mg% Cu 25γ% ポリ燐酸塩200mg% 蒸溜水
0 時間	100	100	100
0.5	81.4	69.4	90.7
1	73.1	62.9	86.5
1.5	68.5	60.0	82.8
3	62.5	54.1	75.9
5	56.0	45.8	62.5
24	9.2	5.5	11.7

25mg%，Cu^{++} 25γ%，ポリ燐酸塩200mg%を蒸溜水に溶解した区の3区を作り，これを常温に放置しポリ燐酸塩の添加がL-AsAの安定性に及ぼす影響について，その経時変化を測定した．L-AsAの残存率は第1表の通りである．ポリ燐酸塩添加区は Cu^{++} 未添加区よりL-AsAの安定性に効果のあることが認められた．

(2) ポリ燐酸塩のL-アスコルビン酸の安定性に及ぼす温度の影響

L-AsA25mg%，Cu^{++} 25γ%，ポリ燐酸塩200mg%を蒸溜水に溶解した区と，L-AsA25mg%，Cu^{++} 25γ%を蒸溜水に溶解した両区を作り，作用温度100℃に処理した場合のL-AsAの安定性を調べた結果は第2表の通りである．ポリ燐酸塩の添加は熱に対してもL-AsAの安定性に役立つことを知った．

第2表　ポリ燐酸塩の添加がL-AsAの安定性に及ぼす温度の影響（残存率%）

試験液組成 / 作用時間	L-AsA25mg% Cu^{++} 25γ% 蒸溜水	L-AsA25mg% Cu^{++} 25γ% ポリ燐酸塩200mg% 蒸溜水
0 分	100	100
30	46.4	64.7
60	42.2	61.9
90	37.5	60.0

(3) 各種pHにおけるポリ燐酸塩のL-アスコルビン酸に対する安定性の比較

L-AsA25mg%，Cu^{++} 25γ%，ポリ燐酸塩200mg%の割合に各種pHの McIlvaine buffer solution に溶解し，これを常温に放置しL-AsAの経時変化を測定した。その結果は第3表の通りである．ポリ燐酸塩のL-AsAに対する安定性はpHに影響されることが大であり，pH3.4以下では割合に安定性があるが，pH4.2以上では非常に劣る．

第3表　各種pHにおけるポリ燐酸塩のL-AsAに対する安定性の比較（残存率%）

pH / 作用時間	0	1	3	5	24	48
2.2	100	100	100	94.8	89.4	83.9
3.4	100	100	92.2	88.3	82.3	55.6
4.2	100	84.2	71.0	65.8	25.8	—
5.2	100	84.2	61.3	54.0	25.0	—
6.2	100	72.4	55.6	54.0	26.5	—
7.2	100	69.6	54.8	51.7	22.0	—
8.0	100	69.6	51.0	42.1	20.9	—

(4) ポリ燐酸塩の添加量を異にする場合のL-アスコルビン酸の安定性

L-AsA25mg%，Cu^{++} 25α%の割合にpH3.5のMcIlvaine buffer solutionに溶解し，ポリ燐酸塩の添加量を異にしてL-AsAの経時変化を測定した．その結果は第4表の通りである．

ポリ燐酸塩の添加量が多くなる程，L-AsAの安定に役立つことが分る．しかし花田等[1]の実験では Cu^{++} 未添加において，ヘキサメタ燐酸ソーダ800mg%の添加では却ってL-AsAが減少することを報告している．実際面で果汁等への使用適量は0.1～0.3%の範囲がよいとされている関係からも過量の使用は避けるべきである．

以上(1)～(4)の実験から，ポリ燐酸塩の添加は Cu^{++} 存在下においてもL-AsAの安定性に対し効果のある

第4表　ポリ燐酸塩の添加量を異にする場合のL-AsAの安定性（残存率%）

作用時間 ＼ ポリ燐酸塩添加量	対照区	50mg%	100mg%	200mg%	400mg%
0 時間	100	100	100	100	100
1	76.8	94.6	100	100	100
3	71.6	92.7	98.1	100	100
5	62.3	85.4	90.1	95.8	100
24	42.3	64.6	81.5	90.7	92.7
72	—	17.6	31.1	46.0	50.9
96	—	—	18.1	29.2	34.1
120	—	—	9.1	19.5	24.4
144	—	—	—	12.8	18.2

ことが認められた．しかしCu^{++}存在下ではpHを3.5に調節し，ポリ燐酸塩を200mg%添加して144時間経過すると約12%の残存率しか示さない．花田等[1]の実験ではL-AsA20mg%の割合にpH3.4のMcIlvaine buffer solutionに溶解し，ヘキサメタ燐酸ソーダ50～400mg%の添加量では18日後のL-AsAの残存率は45～60%であったと報告している．このことはCu^{++}の存在が関係すると共に他の因子によるL-AsAの分解が起っているものと考えられる．

II　缶詰トマト・ジュースにポリ燐酸塩を添加した場合のL-アスコルビン酸の消長

イ　実験材料

トマト（品種，光）は当学部圃場で栽培されたものを用いた．缶詰トマト・ジュースの製造方法は概略次の方法によった．トマトは色廻りのよい完全果を選別し，水洗，除蕃し，3分間蒸煮してからトマトパルパー，フィニッシャーで搾汁した．次に真空度720mmの脱気缶中で真空処理してから，ジュース温度85℃になるまで加熱し，ジュース缶（白缶）に内容200g宛充塡し，直ちに密封した．殺菌は90℃で30分間行い直ちに冷却した．なおポリ燐酸塩（ミートンD）及びビタミンC（強化用）の添加は真空処理後，加熱の際に行った．試験区はビタミンC25mg%強化区と天然ビタミンC区を作り，更に夫々の区にポリ燐酸塩の0.2%添加区と無添加区を作った．

ロ　実験方法

製品は製造後，常温と38℃に6ケ月貯蔵し，1ケ月毎にL-アスコルビン酸をindophenol法で定量し，L-アスコルビン酸の消長を調べた．

第5表　殺菌中におけるL-AsAの損失

試験区	pH	殺菌前 L-AsA	殺菌前 残存率	殺菌後 L-AsA	殺菌後 残存率
		mg%	%	mg%	%
対照区	4.2	15.4	100	15.2	98.7
ポリ燐酸塩0.2%添加区	4.2	14.4	100	14.2	98.6
ビタミンC25mg%添加区	4.0	42.6	100	41.4	97.1
ビタミンC25mg% ポリ燐酸塩0.2% 添加区	4.0	41.4	100	40.2	97.1

ハ 実 験 結 果

(1) 殺菌中におけるL-アスコルビン酸の損失

肉詰時のL-AsAと缶詰にして殺菌直後のL-AsAを測定し，殺菌中におけるL-AsAの損失を調べた結果は第5表の通りである．

殺菌中におけるL-AsAの損失は2～3%で，ポリ燐酸塩添加区と無添加区との両者に差異は認められなかった．

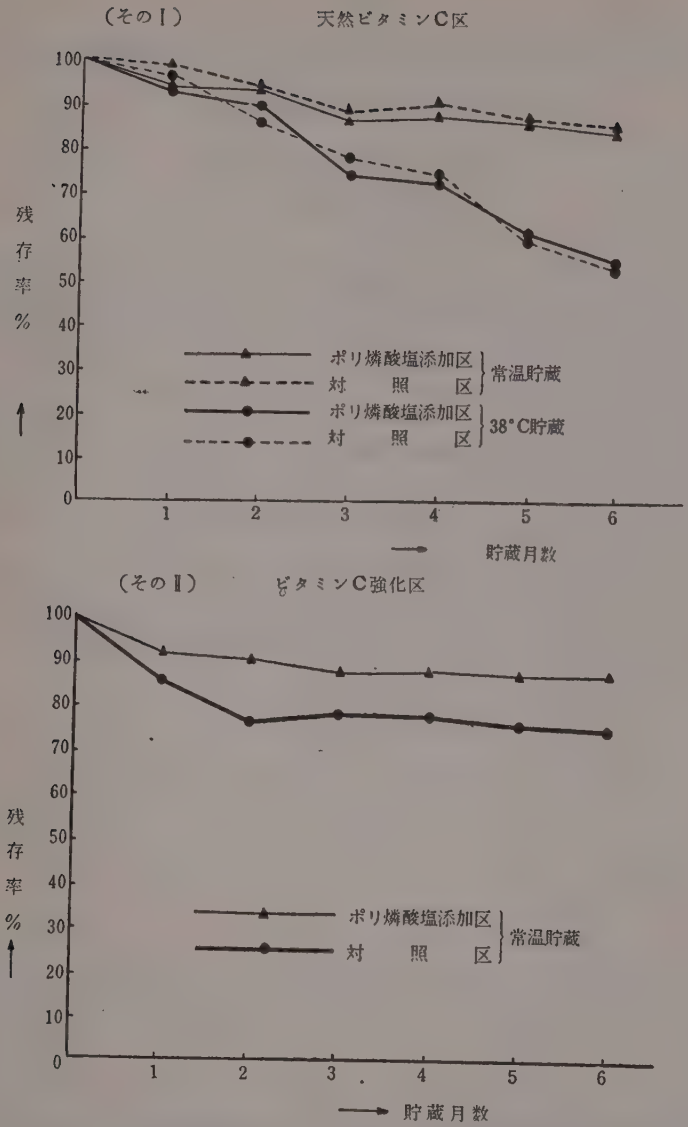
(2) 貯蔵中におけるL-アスコルビン酸の消長

製品貯蔵中におけるL-AsAの消長は第6表の通りで，これをL-AsAの残存率で示せば第1図（Ⅰ～Ⅱ）の如くである．

第6表　ポリ燐酸塩添加缶詰トマト・ジュース中のL-AsAの消長

試験区		貯蔵月数 / 貯蔵条件	殺菌直後	1	2	3	4	5	6
			mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%
天然ビタミンC区	対照区	常温	15.2	15.1	14.6	13.5	13.9	13.4	13.2
		38℃	15.2	15.0	13.3	12.1	11.4	9.3	8.3
	ポリ燐酸塩0.2%添加区	常温	14.2	13.5	13.6	12.4	12.7	12.4	12.2
		38℃	14.2	13.4	12.8	10.7	10.6	8.8	8.0
ビタミンC強化区25mg%	対照区	常温	41.4	36.6	32.5	33.5	33.2	32.4	32.1
	ポリ燐酸塩0.2%添加区	常温	40.2	37.9	37.3	36.1	36.7	36.0	35.9

天然ビタミンC区では常温並に38℃貯蔵両区において，ポリ燐酸塩添加の効果は認められなかった（第1図のⅠ）．ビタミンC強化区ではポリ燐酸塩添加区は6ヶ月後86.7%の残存率を示し，対照区の75.3%に比し約10%程残存率が高くなっている（第1図のⅡ）．またポリ燐酸塩無添加の場合は強化ビタミンC区の残存率は75.3%で，天然ビタミンC区の85.8%に比し劣っている．稲垣氏[3]によれば天然果汁中におけるビタミンCが合成アスコルビン酸溶液におけるよりも熱に対して，また重金属による酸化に対しても甚だ安定であり，その理由は天然果汁中に共存する糖類，有機酸，その他各種有機成分がビタミンCに対する酸化抑制作用を有するためであると認めている．強化果汁の場合は天然含有量より過剰にビタミンCが加えられるため，上記の酸化抑制物質の相対的な均衡が失われるためではないかと推察される．ポリ燐酸塩はこれらの均衡を維持するのに効果がある．以上の結果から，ポリ燐酸塩の添加は強化果汁のビタミンC保持に有効であることが認められた．



第1図　ポリ燐酸塩添加缶詰トマトジュースの中の L-AsA の消長（残存率）

要　　約

ポリ燐酸塩の添加がL-アスコルビン酸の安定性に如何に影響するかについて実験した．

(1) 銅イオンを添加したL-アスコルビン酸溶液についての実験では，ポリ燐酸塩の添加はL-アスコルビン酸の安定性に有効であり，pH3.4以下で効果のあることが認められた．

(2) ポリ燐酸塩を添加した缶詰トマト・ジュースを貯蔵し，L-アスコルビン酸の経時変化を測定した．天然ビタミンC区ではポリ燐酸塩添加の効果は認められなかった．ビタミンC強化区ではポリ燐酸塩はL-アスコルビン酸の安定性に著効のあることが認められた．6ケ月貯蔵した場合のL-アスコルビン酸の損失

はポリ燐酸塩添加区は約14%であるに対し，対照区は約25%であった．

終りにこの研究のために試料及御便宜を与え下さった田辺製薬株式会社に厚く謝意を表する．

文　　献

1) 花田，横尾，鈴木，山口，吉田：栄養と食糧 11,306 (1959)
2) 花田，横尾，鈴木，山口，吉田：栄養と食糧 11,308 (1959)
3) 稲垣：天然物のビタミンC，産業図書（昭23）

Summary

(1) The effect of poly-phosphate as a preservative for L-ascorbic acid solution was examined. Poly-phosphate was found to have the property of somewhat superior preservative for L-ascorbic acid solution, especially for L ascorbic acid solution containing Cu^{++} inos. This effect occurred below pH3.4.

(2) The loss of L-ascorbic acid during the preservation for canned tomato juice containing 0.2% poly-phosphate, was examined.

Poly-phosphate was found to be effective for the preservation of L-ascorbic acid contained in the tomato juice as an 'enrichment'.

The loss of L-ascorbic acid in the enriched canned tomato juice containing poly-phosphate, was 14 percent, after it had been preserved for 6 months at room temperature, while the loss of L-ascorbic acid in the tomato juice contairing no poly-phosphate was 25 percent.

植物材料よりのβ—インドール酢酸の検出および定量に関する研究

柴沼忠三・石井　弘・間瀬哲也
（生物化学研究室）

Chuzo Shibanuma, Hiroshi Ishii and Tetsuya Mase : Studies on the Detection and Determinaton of β—Indol Acetic Acid in Plant Materials.

緒　　言

植物の天然生長物質は主としてβ—インドール酢酸（IAA）であり，組織中では遊離生長物質として，あるいは蛋白複合体等として存在すると考えられる．後者はそれ自身にはホルモンとしての作用はないが，これに酵素あるいはアルカリを作用させることによりIAAが遊離してくる[1]．J. Avery[2]は玉蜀黍を水で抽出して遊離ホルモンを得，別にpH9.6で120°C30分間加圧加熱分解して全ホルモンを得て，この差をもって前駆ホルモンとした．その後，Gordon[3]は蛋白結合体からIAAを分離する場合，アルカリ処理法より酵素消化法の方がすぐれていることを報告している．また生長物質の証明法は，1928年Wentにより考案された生物学的方法—燕麦試験あるいは豌豆試験—によるが，これによるとIAA以外のホルモンも同時に測定されることになる．従ってIAAのみを測るには化学的方法によるほかはない．Gorden-Weber法，Tang—Bonner法で光電比色計を用いて測定が行われて来たが，この種の研究は漸く緒についた感じである[4,7,8]．

著者等はPaperchomatograhyによるβ—インドール酢酸の分離定量を研究すると共に，この方法を用いて小麦および馬鈴薯中の遊離インドール酢酸および蛋白質結合体のインドール酢酸の存在量を測定したのでここに報告する．

実　験　の　部

（Ⅰ）実験器具および試薬

Paperchromatography用器具および試薬：展開装置—東洋沪紙式B型．沪紙—東洋沪紙No.50およびNo.51，展開剤　iso.Propanol：28%NH_4OH：H_2O＝10：1：1(V/V)．溶出剤—0.001M KOH, 0.001M HCl．呈色剤—Ehrlich試薬．

蛋白消化酵素剤—パンクレアチン．

比色定量器具および試薬：比色計はErma光電比色計を用い，β—インドール酢酸加里（IAA-K）を標準液とした．

（Ⅱ）実　験　方　法

（a）Paperchromatographyによる IAAの分離定量

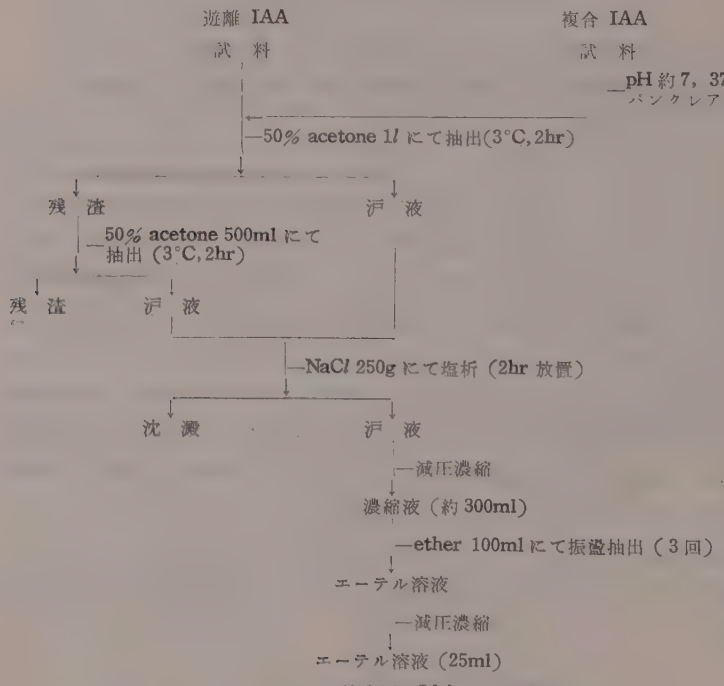
Paperchromatographyは上昇法によった．まずIAA-Kを水溶液として，沪紙にスポットして展開し，風乾後発色させ，Rf値，沪紙の種類，原点との関係，発色域の大きさ等を調べた．定量実験の場合にはミクロピペットを使用して試料溶液を沪紙に反覆スポットした．同時に標準IAA-K液をそれぞれ平行してスポットし，風乾後発色させ，これと照合して発色部分と同位置の試料沪紙部分を切り取り，0.001M KOH

て溶出，0.001M HCl で中和後発色させ（30°C の恒温槽中 30 分間），これを比色定量した．

（b） 試 料 の 調 製

試料　馬鈴薯（だんしゃく）2kg，小麦（農林 53 号）500g．

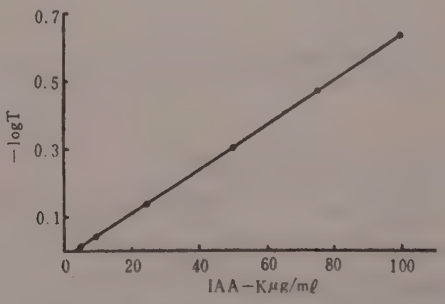
試料を粉砕後，複合 IAA[3,5,6,7] の抽出には H.PACHECO の方法によりパンクレアチンによる酵素消化を行い，遊離 IAA の抽出は THIMANN[10] の方法に準じて次の如く行った．



第 1 図　IAA の 分 離

（Ⅲ） 実験結果および考察

(1) 比色定量法，標準曲線の作製．IAA-K の水溶液による標準曲線は第 2 図に示す如くである．第 2 図の示す如く定量に使用し得る範囲は，IAA-K 溶液 1ml 当り 5—100μg である．5μg/ml 以下の場合は比色計の関係上測定困難であった．



第 2 図　IAA-K-標準曲線

(2) Paperchromatography.

（a） Rf 値：Paperchromatography は室温で行ったものであるが，展開の結果，IAA のみを展開した場合と，調製試料に溶解したものとでは Rf 値が異る（第1表）．これは他の物質の影響と思われる．

第1表

試　　料	Rf　値
IAA—K	0.33—0.37
IAA—K＋Sample	0.29

（b） 沪紙の種類：東洋沪紙の No.50 と No.51 を用いた．No.51 は展開時間は短かくてすむが，発色域および取扱いの点から本実験では No.50 を用いた．第2表に発色域を示す．なおスポットの大きさは径 5mm 以下が適当であるが，反覆スポットする場合には困難なため，なるべく 1cm 以下になるようにした．

第2表

沪紙の種類	Rf　値	
	30μg	60μg
No.50	0.32—0.42	0.32—0.42
No.51	0.33—0.44	0.32—0.44

（c） 原点：原点の高さの差による発色域を第3表に示す．スポット量は 60γ，沪紙 No.50，展開剤 iso-Propanol : NH_4OH : H_2O=10 : 1 : 1.

第3表

No.	Rf　値		
	3cm	4cm	5cm（原点の高さ）
1	0.28—0.40	0.27—0.39	0.27—0.39
2		0.27—0.39	0.27—0.39

この結果原点の高さ 4cm 以上では Rf 値の範囲が一定であるため 4cm 以上が適当と思われるから，今後の実験では，原点を 5cm とした．

（d） IAA　K の回収率：東洋沪紙 No.50，原点の高さ 5cm，30μg スポット，iso-Propanol : NH_4OH : H_2O=10 : 1 : 1により展開，0.001M KOH1ml で溶出し，0.001M HCl で中和後これを発色させて比色定量する．溶出時間は 1hr，発色は 30°C，30min.—1hr．その結果は第4表に示す通りである．

第4表

No.	スポット量	溶　出　量*	回　収　率
1	30.0μg	24.5μg	81.7%
2	〃	26.5	86.7
3	〃	25.0	83.3

* Rf値0.29—0.40(0.35)の IAA に相当する区分を溶出

平均回収率は約84%であって充分と思われないが，やや安定した数値である．

（e） 減圧濃縮中におけるIAA—Kの損失：馬鈴薯より抽出したacetone溶液(Sample I)にIAA—K 5mg（100μg/0.5ml）を入れ，IAA—Kの回収率を調べた結果は第5表である．但しこの場合は馬鈴薯500gで行いエーテル振盪および塩析は行わなかった．

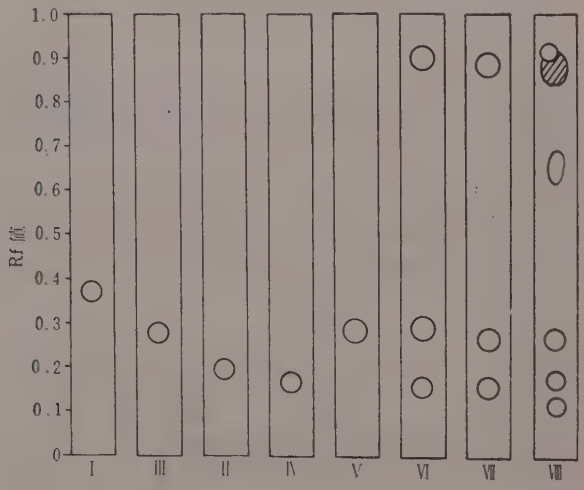
第5表

No.		回　収　量
1	100μg/0.5ml+Sample I	85.0μg/0.5ml
2	〃	82.5μg/0.5ml
3	〃	83.0μg/0.5ml

（f） 試料中のIAAの定量：馬鈴薯および小麦より調製した試料のEhrilch試薬による呈色およびRf値は第6表および第3図に示す．

第6表

No.	物　質　名	Rf　値					
I	IAA—K	0.37					
II	トリプトファン	0.19					
III	IAA—K+Sample I	0.28					
IV	トリプトファン+Sample I	0.17					
V	馬鈴薯(遊離IAA試料)	0.28					
VI	〃 (複合IAA試料)	0.29	0.16	0.90			
VII	小　麦(遊離IAA試料)	0.27	0.12	0.88			
VIII	〃 (複合IAA試料)	0.27	0.12	0.18	0.66	0.87	0.93



第3図　第6表各試料のRf値

（スポットは赤色，ただし斜線部のみは青色）．

トリプトファンは Ehrlich 試薬により IAA と同様赤色に発色するので，この Rf 値を調べた．結果は第6表の如く 0.17—0.19 で可成小さく，IAA との分離は完全である．馬鈴薯および小麦の濃縮抽出液中には，同様 Ehrlich 試薬により発色する数種の物質を含有することが判明したが，いずれも IAA とは Rf 値を異にするから IAA の分離には支障がない．なおこれらの物質中ホルモン作用を有するものがあるか否かは，確かめなかった．

試験中の IAA を Paperchromatogram 上に分離し，IAA に相当する部分を溶出後比色定量にした結果は第7表の如くである．

第7表

馬鈴薯（だんしやく）		
遊離 IAA	10.7μg/0.5ml	0.535mg/2kg
複合 IAA	5.3μg/0.5ml	0.265mg/2kg
小　麦（農林53号）		
遊離 IAA	trace	—
複合 IAA	8.0μg/0.5ml	0.4mg/500g

植物中に存する全 IAA の抽出には，溶媒の種類，抽出温度，抽出回数その他の条件を更に究明する必要があるが，本実験では THIMANN 等の抽出法を用いた場合の数値である．

摘　　要

著者等はβ—インドール酢酸の Paperchromatography について研究し，更に植物材料からこれの分離定量を試みた．展開剤には iso-Propanol : NH_4OH : H_2O=10 : 1 : 1，呈色剤には Ehrlich 試薬を用いたが，β—インドール酢酸の Rf 値は同試薬で発色する数種の他の物質の Rf 値とはかなりの差異があるので発色相当部を切離して定量することが出来た．これにより馬鈴薯および小麦の中の遊離および複合β—インドール酸酸を定量した．

文　　献

1) 住木諭介：植物ホルモン(1954)．
2) J. AVERY : Am.J. Botany ; 30,199(1943)．
3) S. A. GORDON : Am. J. Botany ; 33,160(1946)．
4) S. A. GORDON : Plant Physiol ; 26,192(1951)．
5) H. PACHECO : Bull. Sté Chem. Biol ; 33,1915(1951)．
6) THIMANN : Science ; 92,64(1940)．
7) 松中昭一：化学の領域(増33)；112(1957)．
8) TANG & BONNER : Arch. Biochem. Biophys. ; 13,11(1947)．
9) STOWE & THIMANN : Arch. Biochem. Biophys. ; 51,4991(1954)．

Summary

The authors have investigated the paperchromatography of β—indolacetic acid (IAA) and

further tried to separate and determine this substance in plant materials. iso-Propanol; NH_4OH : H_2O=10 : 1 : 1, as developing agent, and Ehrlich reagent, as revelating agent, were used respect -ively. As the Rf value of IAA is considerably different from that of other materials revelated by the above reagent, we could determine IAA by cutting off the parts corresponding to IAA. Using this method we estimated the contents of free-IAA and complex IAA in potatoes and w- heats.

蛋白質の消化に関する研究

第3報メラニンの枯草菌プロテアーゼ阻害について

信濃　栄・田村五郎

（栄養及び食品化学研究室）

Sakae Shinano and Goro Tamura: Studies on the Digestion of Proteins. PartIII on the Inhibitory Effect of Melanin on B. subtilis N Protease.

先に小幡等[1]によりメラニンが食品中の褐変物質の一つである事が指摘された．この種の物質は広く動植物体中に存在しその褐変物質そのものの研究は従来非常に多く行われて来た．しかしこれ等の褐変物質が動植物体内の生理作用及び栄養代謝に如何に関係するかに関しての報告は皆無である．そこで著者等は系統的にメラニンが消化酵素の活性に対しどの様に影響するかにつき究明し先にβ－アミラーゼ及びトリプシンの酵素作用に対し強力なる阻害作用を有する事を報告した[2,3,4]．そこで今回はトリプシン類似の酵素でありトリプシンと比較するに充分意味のあると考えられる枯草菌プロテアーゼに対するメラニンの影響につき実験検討し二三の結果を得たので報告する．

実験方法

(1) 酵素溶液

大阪大学蛋白質研究所赤堀四郎教授より御恵与された結晶枯草菌プロテアーゼを0.02M－Nacl溶液に溶解した．酵素濃度は1mg/3mlで実験を行った．

(2) 基質溶液

Merk社製 Hammarsten カゼイン1.2gに対し0.05M $-Na_2HPO_4$溶液100mlを添加後加熱溶解してpH 7.5に調製し全容を100mlにした後使用した．

(3) 酵素不活性化の為の除蛋白試薬

前報[4]と同じく0.11M $-Ccl_3COOH$, 0.22M $-CH_3COONa$, 0.33M $-CH_3COOH$の混合液を使用した．

(4) 酵素活性度及び阻害度の測定

特に記さない場合は次の反応条件を使用した．酵素溶液0.1ml，メラニン溶液0.3ml，燐酸緩衝液1ml (0.05M)，蒸溜水1mlの合計2.4mlを混和し一定時間30℃の恒温槽中で反応せしめ（以下これをPre-incubationと呼ぶ）次に前記基質溶液2mlを添加30℃ 10分間酵素反応を行わせしめ除蛋白試薬にて酵素作用を停止させた．

次に30分間同一温度にて放置したる後硬質沪紙を用いて口過し口液の吸光度を275mμの波長を用いて測定した．この測定値より酵素溶液，除蛋白試薬，基質の順に加えた盲検値を差引いた値より酵素の相対活性度を求めた．

尚相対活性度は前報に於けるトリプシンの場合と同様標準曲線を用いて換算した．

又阻害度は次式によつて求めた

$$\text{阻害度（100分率）} = \left(1 - \frac{V}{V_0}\right) \times 100$$

v_0：メラニン無添加の場合の相対活性度（上記0.3ml メラニンを水に代え）

v：メラニン添加の場合の相対活性度

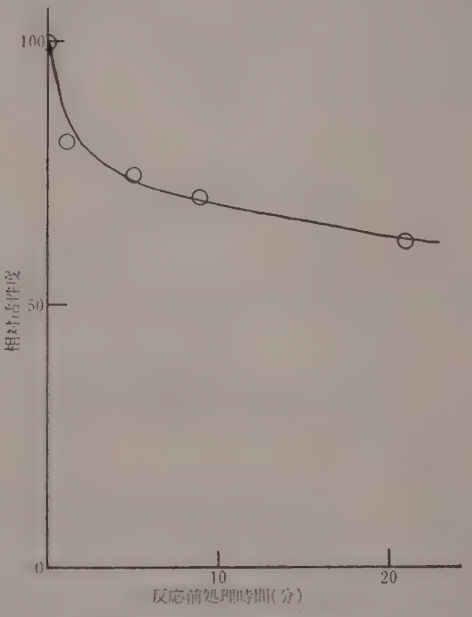
(5) ドーパ・メラニン

前報[4]と同一物質を用いた．濃度は245γ/ml の水溶液をそのまま用いた

実験結果及び考察

(1) 酵素の前処理が酵素活性度に及ぼす影響

前報[4]のチロシンの場合と同じく酵素反応に先立つ酵素・基質・阻害物質の共存時間の長短によってその阻害物質（メラニン）の酵素阻害度は異なるであろうと考えた．そこで共存時間を種々に変え酵素の活性度に対する影響をみた．即ち0.1ml の上記酵素液，0.3ml メラニン溶液，2.2mlpH3.0 の緩衝溶液の三者を混和し 30 ℃で一定時間 Preincubatin を行い，上記の方法による酵素活性度をみた．結果は第1図の如くであり酵

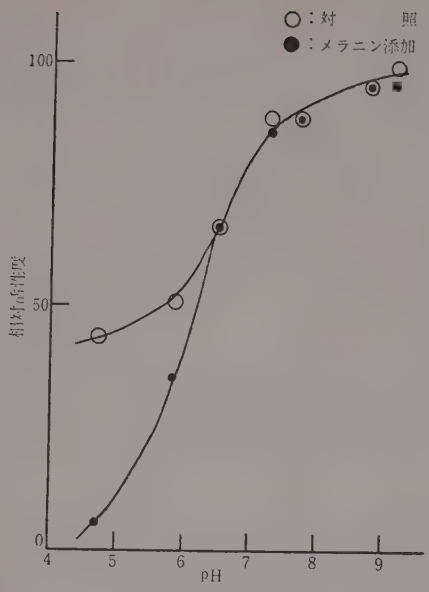


第1図　反応前処理時間の影響

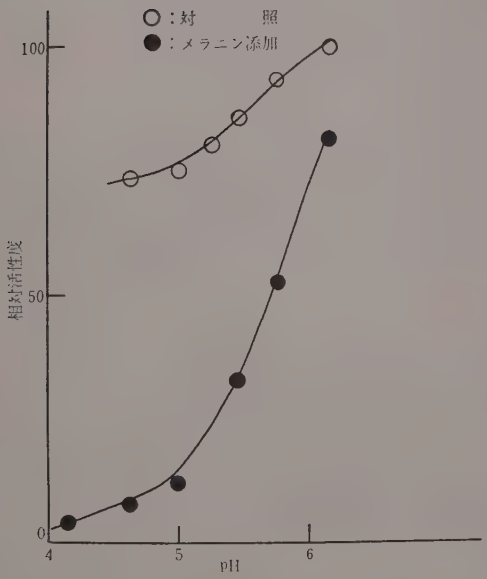
基質存在下20分程度の preincubation において完全な阻害を示した．又図より明らかな如く酵素，基質，阻害物質の三者を同時に反応させた場合は殆んど阻害反応は生じなかった．この事はこの酵素阻害とトロシン・メラニン反応の場合と全くよく同じ様に基質を阻害物質の活性的実証であるといえる．従ってこの作用機構を追究する事により酵素・基質間の反応機構の多くの重要事項を明らかにし得るものと考える．

(2) 阻害反応に対する pH の影響

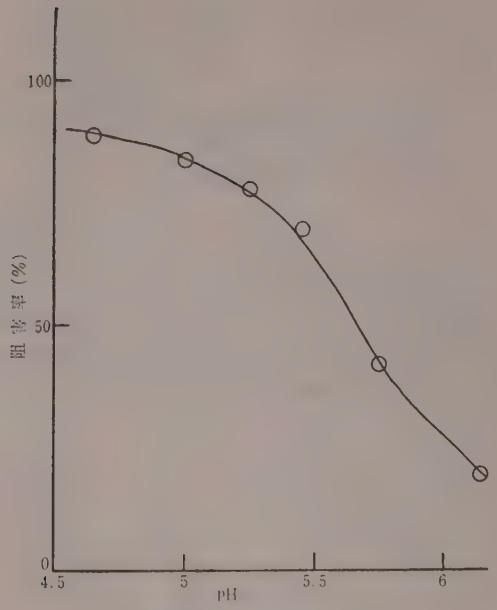
阻害反応に対する pH の影響を見た．酵素活性度及び阻害度は前記実験方法に記したとおりであり Preincubation は 20 分間行った．結果は第2～4図に示した．図より明らかな如く阻害度は pH [illegible] 場合自然に [illegible] pH 依存性を示した．第4図を血圧降下の問題と考えると



第2図　pH の影響



第3図　pH の影響



第4図 pH の 影 響

ば明らかにこの曲線の示すpK値はヒスチヂンのイミダゾール核の値と一致する．この事よりこの枯草菌プロテアーゼはトリプシン，キモトリプシン等と同様にその酵素活性団の一員としてヒスチヂンのイミダゾール核を含むのではないかと考えられる．

(3) 阻害の可逆性に関する実験

前報の場合と同様 POTTER[5] 及び ACKERMANN[6] 等の方法により次の如くして解析を行った．即ち酵素含有量を種々に変えた 0.4ml の酵素液に 0.3ml のメラニン溶液，1.7ml の pH 5 HCl 溶液を加え 20 分間 Preincubate した後に酵素の活性度を求めた．結果は第5図の如くである．図より明らかな如くトリプシンの場合と比較して多少非可逆性は落ちるようである．尚最初 pH3 の Hcl 溶液中にて阻害反応を行い次に pH8 に移行せしめてもこの阻害反応は減少しない．故にこのメラニン酵素反応は単なる可逆的な反応ではないらしい．

(4) 阻害反応に対する阻害物質濃度の影響

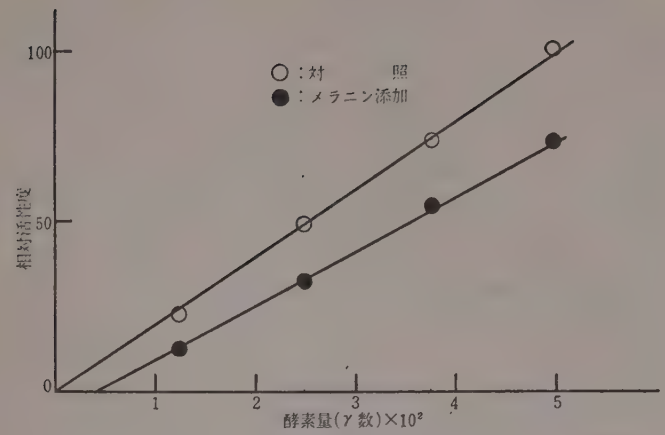
第6図は阻害度と Preincubation に使用したメラニン濃度との関係を示したものである．即ち0.2ml の酵素液，0.8ml の各種濃度のメラニン溶液，0.5ml の燐酸緩衝液(pH5.0, 0.05M) 0.9ml の蒸溜水を混和し 20 分間の Preincubation の後に酵素活性度を求めた．得られたシグモイド曲線は高宮[7] の式に従って解析と阻害次数を求めた．即ち次図に示す如き関係が見られた．

$$H = \frac{100}{1 + \phi g/M}$$

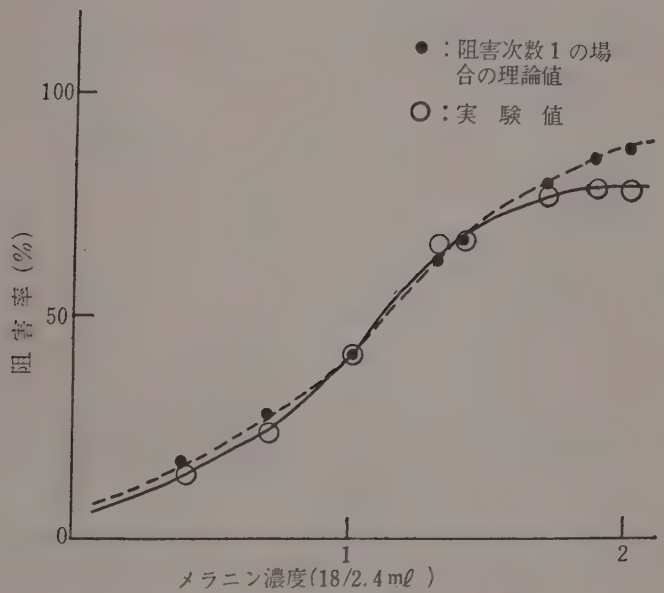
H：酵素阻害度

M：メラニン濃度 (γ/ml)

図より明らかな如くトリプシンの場合と異なり n=1即ち阻害次数は1次であった．この事よりトリプシ



第5図　阻害の可逆性の解析

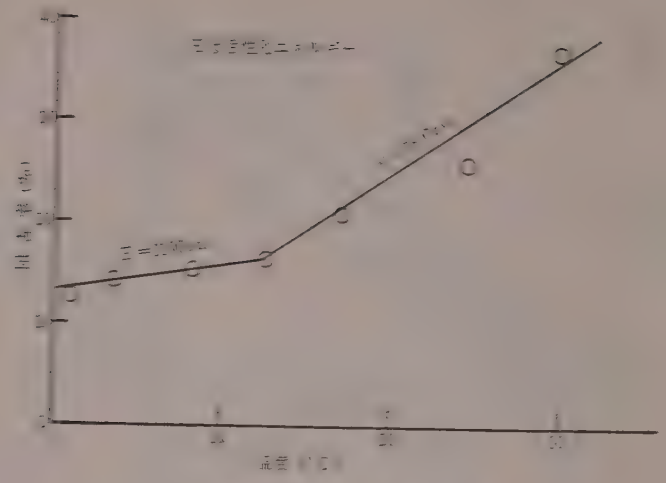


第6図　メラニン濃度の影響

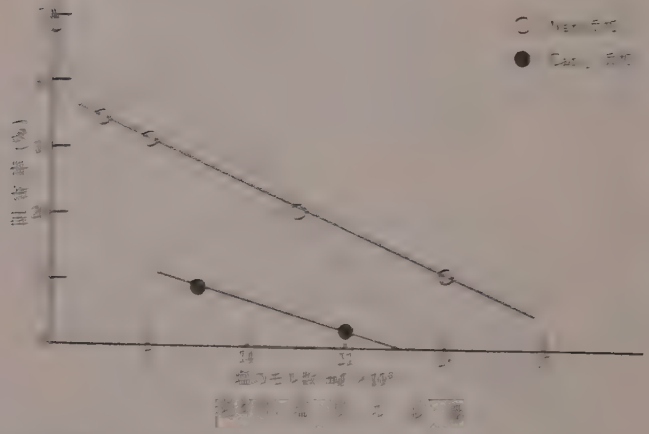
ン・メラニン反応の場合よりはより単純な酵素・メラニン反応ではないかと考えられる．尚メラニンの高濃度に於ける理論値との関係はトリプシンの場合と同様メラニン自体の会合によるものと考える．

(5)　阻害反応に対する温度の影響

この阻害反応に対する温度の影響を第7図に示す．酵素溶液0.2ml，メラニン溶液0.2ml，pH5—Hcl 溶液2.0mlの三者を混和20分間 Preincubate し酵素の活性度を前記の方法にて測定した．図より明らかな如くこの阻害反応は少なくとも二種以上の反応より成立つて，る事が考えられる．又活性化エネルギー(E)は



第1図　温度の影響



第2図　塩濃度の影響

(4)　阻害反応に対する無機イオンの影響

ても本酵素とメラニンとの反応はトリプシンとメラニンとの反応よりいくらか解析し易いのではないかと考えられる。

要　　約

バーノ・ルテニ」の枯草菌プロテアーゼに関する研究の一部として次の事を見た

1. バーノ・ルテニ」の枯草菌プロテアーゼ（Preincubate）に対する…

(2) この反応にはpHが関係し一般に酸性側に於てより強力なる阻害を起こしpH…近よりアルカリ性側に於ては阻害は起らなかつた。又この阻害度とpHの関係よりこの枯草菌プロテアーゼの酵素活性団の一部にはヒスチヂンのイミダゾールが関与して居る事が推察される。

(3) この阻害反応は非可逆的な反応であり，この阻害機作を究明する事により酵素―基質反応の解析が可能であるる。

(4) この阻害反応は阻害次数の解析によりメラニン一分子と酵素一分子との間に生ずる反応である事が推定される。

(5) この阻害反応の活性化エネルギーは7600Cal，及び3100Calの二種類であつた。この事より結合力が非常に低く，水素橋結合又はファンデンワールスの力又は一部のイオン結合等が阻害反応に関与する事が考えられる。又アレニウスのプロットに一つの臨界点が現われる事よりみて…

(6) 又この阻害反応はNa^{+},Ca^{++}等の無機イオンによつて影響されいづれの場合もカチオンの存在は酵素阻害を助けることに。

終りに当り結晶枯草菌プロテアーゼを御恵与された大阪大学蛋白質研究所赤堀四郎教授に感謝致します。

文　　献

(1) 小幡弥太郎，坂村貞雄：日農化誌，27,766 (1953)
(2) 田村五郎：栄養と食糧，11,338 (1959)
(3) 信濃栄，田村五郎：日農化誌，33,1094 (1959)
(4) 信濃栄，田村五郎：日農化誌，34,1005 (1960)
(5) V. R. POTTER : Ann. Rev. Biochem., 14,11 (1950)
(6) W. ACKERMANN, V. R. POTTER : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 72,1 (1949)
(7) 高宮篤：酵素研究法，第1巻，p.251 (1956)

Summary

1. The effect of several factors affecting the inhibitory action of melanin on bacterial Protease (B. subtilis N Protease) has been studied.

2. The degree of inhibition was affected by the time and temperature, and pH or ionic strength of preincubation mixture.

3. So-called irreversibility of melanin inhibition was confirmed by the Potter and Ackermann's method.

4. From pH-dependence of inhibition percentage, the basic pK value of binding site or …

bacterial protease with melanin has been evaluated as 5.6.~5.7. From this value it has been suggested that histidine residue may be involved in the active site of bacterial protease of this type.

5. Some possible types of linkage for Combination of bacterial protease and melanin have been discussed.

ポリ燐酸塩がブドウ果汁の醱酵に及ぼす影響について

高野一郎・矢吹稔
（応用微生物学研究室）

Ichiro TAKANO and Minoru YABUKI : Studies on the Influence of Polyphosphate in Wine-making.

緒　　論

ポリ燐酸塩は最近食品添加物として畜水産肉製品，清涼飲料，ブドウ酒或いは味噌等の醸造品に応用され，それらの食品の保水性や粘度を高め風味の改善，ビタミンCの安定化，果汁製造の際の搾汁率の向上，酒石の析出による濁りの防止等の目的に使用されている．

藤巻，津田[1]及び藤巻，倉林[2]は牛，豚，馬，家兎，鶏，魚肉等にピロ燐酸，ヘキサメタ燐酸，トリポリ燐酸のナトリウム塩を添加して，これら肉類の保水性に及ぼす影響について報告している．

花田等[3]は人工的に調合せる果汁に添加したl-アスコルビン酸がヘキサメタ燐酸ナトリウムによって安定化されると報告している．

ブドウ酒については BERG and AKIYOSHI[4,5] により紅果皮中の色素の抽出にはアルコール及び溶存する窒素，亜硫酸が大きく影響すると報告しているが，褐濁については JOSLYN and LUCKTON[6] 及び PETERSON, JOSLYN and CURBIN[7] によるとEDTAの様なキレート作用のある物質を添加して Fe^{++}，Cu^{++} の作用を封ずると褐濁を防ぐことが出来る，又銅－蛋白質複合体が褐濁の原因になると報告している．

森永，財満，加賀美[8]は合金製ブドウ酒醸造容器より溶出する金属イオンが酒質に及ぼす悪影響を封じる目的でポリ燐酸塩類の添加試験を行ない，赤ブドウ酒の色調の劣化を防ぎ好結果を得たと報告している．

楠田，丸山[9]はポリ燐酸塩を使用して白ブドウ酒を圧搾醸造し，また赤ブドウ酒に添加して貯蔵試験を行い，又生成酒の化学分析ときき酒の結果よりポリ燐酸塩の酒質におよぼす影響について報告している．

著者等はポリ燐酸塩を添加して搾汁することにより果汁の搾汁率を高め又色素の抽出，安定性を良好ならしめ，褐濁を防止して風味の向上を計ることが出来ると考え昭和34年度及び35年度に以下の如き試験を行なったので，その結果をここに報告する．

実験材料及び方法

(1) 原料ブドウ，ナイヤガラ，デラウェア，甲州，キャンベルスアーリー，及びマスカットベーリーAの市販品を使用して実験を行った．

(2) 供試ポリ燐酸塩は田辺製薬株式会社から入手したミートンD（メタ燐酸ソーダ60%，ピロ燐酸ソーダ10%，ポリ燐酸カリ5%表記）を用いた．

(3) ブドウ果汁の醱酵，ナイヤガラ，デラウェア，甲州等は果梗を除き破砕してポリ燐酸塩を加えよく混和した後布袋に入れて手動式圧搾機で搾り果汁を得た後 Blg21°～24° になるまで砂糖を加え，予め殺菌した果汁に培養した酵母培養液を10%前後添加し500～1000mlのビーカー中で醱酵させた．尚一部は圧搾した

果汁にポリ燐酸塩を加えたものもある．キャンベルスアーリー，マスカットベーリーAは除梗，破砕した果実に補糖ポリ燐酸塩を添加，醱酵終了後に前記同様圧搾して醱酵液を得た．醱酵液は冷蔵庫中に保存して分析に供した．

(4) 醱酵果汁の吸光度，試料を3000r.p.mで30分遠心分離した上澄液について光電比色計を用いて蒸溜水に対する吸光度を測定した．

(5) 直接還元糖は小林，田淵[10]の半微量定量法を用いて測定した．

(6) pHは比色及びガラス電極法により測定した．

(7) 燐酸はALLEN[11]の方法により定量した．

(8) その他の項目については常法によった．

結果及び考察

(1) 果汁の搾汁率，第1表に本実験により得られた搾汁率を示し第2表に本学部試験醱酵の際に得られた搾汁率を示した．風間等[12]の報告によると搾汁率は0.64～0.85の間にあるが之等の結果を比較するとポリ燐酸塩を添加しても搾汁率には変化なく，その収量の向上をはかることは期待できないようである．

第1表 葡萄果汁の搾汁率

実験番号	葡萄品種	重合燐酸塩添加量 %	A 果粒重量	B 果汁容量	搾汁率 B/A
			g	ml	
1	キャンベルスアーリー	0	421	425	1.01
		0.05	441	465	1.05
		0.10	364	390	1.07
2	ナイヤガラ	0	301	200	0.66
		0.08	363	265	0.73
		0.10	302	245	0.81
3	デラウェア	0	1900	1380	0.73
		0.04	—	—	果汁に添加
		0.08	—	—	果汁に添加
4	デラウェア	0	463	365	0.79
		0.06	459	360	0.78
		0.06	471	380	0.81
		0.10	458	360	0.79
		0.09	480	375	0.78
5	デラウェア	0	386	285	0.74
		0.05	394	287	0.73
		0.05	385	282	0.73
		0.10	387	282	0.73
		0.10	396	292	0.74
6	マスカットベリーA	0	625	586	0.94
		0.02	595	572	0.96
		0.05	571	505	0.88
		0.10	569	495	0.87

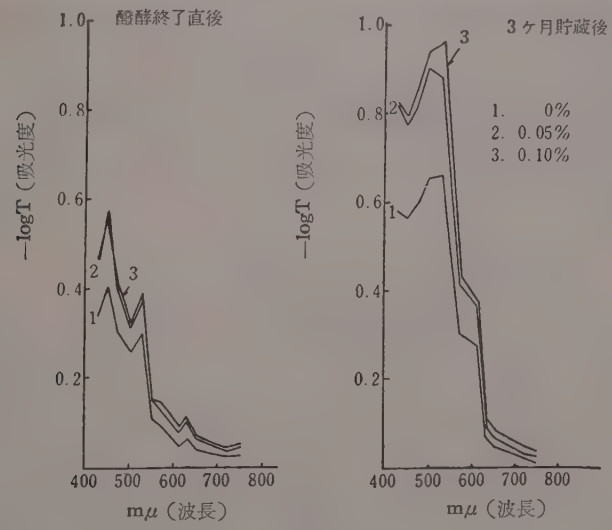
実験番号	葡萄品種	重合燐酸塩添加量%	A 果粒重量	B 果汁容量	搾汁率 B/A
7	甲州	0	54,030	39,124	0.72
		0.05	50,250	36,190	0.72

第2表　本学部試験醸造葡萄酒の搾汁率

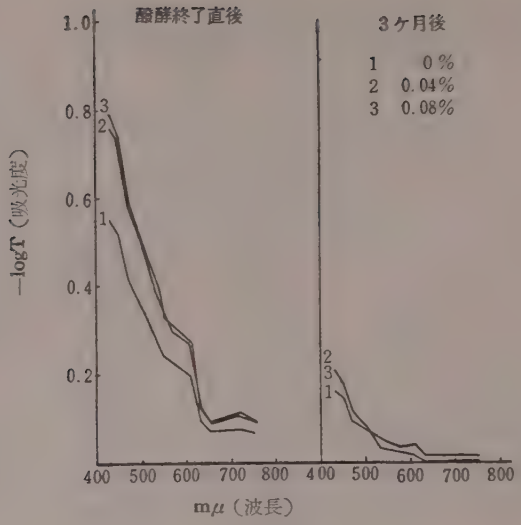
醸造年度	品種	A	B	B/A
1956	デラウェア	830 g	550 ml	0.66
〃	甲州	1,040	830	0.80
〃	甲州	2,170	1,670	0.77
〃	甲州	64,557	43,500	0.67
〃	マスカットベリーA	65,994	55,352	0.84
〃	甲州	64,125	46,880	0.73
1957	甲州	106,020	72,266	0.68
1958	甲州	54,470	40,300	0.74
〃	甲州	53,000	35,600	0.67
〃	甲州	5,290	4,240	0.80

(2) 醗酵果汁の吸光度，実験の部にのべた方法により滓引，遠心分離を行なった醗酵果汁についてその吸光度を測定した結果を第1図及び第2図に示す．この図より見られる様にポリ燐酸塩添加のものは添加しなかったものより吸光度は大きかった．この事はポリ燐酸塩添加が色素の抽出も良好にしたものか，或いは抽出された色素の安定化に影響したものか何れかによるものであろうが．破砕果実に添加して圧搾するのでなく，圧搾果汁に醗酵時添加したものも対照に比較して大きな吸光度を示しているのでポリ燐酸塩が色素の安定化に好影響を及ぼすのではないかと考えられる．

尚ポリ燐酸塩の添加量を0.02%から0.10%まで変えてみたが添加量の差による吸光度の増加は認められ



第1図



第2図

なかった。

スプドウ酒の吸光度曲線は福田，九山[13]が得ているものと略同様であり，正常なものと判断される．

(3) 貯蔵後の果汁醗酵液の吸光度

醗酵終了後約3ヶ月貯蔵した果汁について前記同様にして吸光度を測定した．第1図及び第2図に見られる様にポリ燐酸塩添加のものは対照に較べて大き，吸光度を示し貯蔵中にもポリ燐酸塩は色素の安定化に影響していることがわかった．

(4) 貯蔵後の醗酵果汁の成分

分析の結果を第3表に示す．直接還元糖，総酸，アルコール等については，ポリ燐酸塩添加の影響は見られない．ポリ燐酸塩を添加した果汁に燐含量の多いのは当然であるがそのうちの正燐酸の割合が大き．．しかし添加したポリ燐酸塩は21.62%のPを含み，その水溶液はALLENの方法で定量しうる正燐酸を含んでいない．このことは醗酵中にポリ燐酸塩が正燐酸に加水分解をうけたものと考えられる．なお果汁のpHは3～3.6位の間にあり，酸による加水分解も考えられるので，人工果汁を調製してポリ燐酸塩を添加醗酵させ燐酸の消長について次の実験を行なった．

第3表 果汁醗酵液の成分

実験番号	葡萄品種	重合燐酸塩添加 %	直接還元糖	総酸	アルコール	正燐酸	全燐酸
			mg/100ml	g/l	vol.%	mgP/ml	mgP/ml
1	キャンベルスアーリー	0	177	8.22	12.0	0.045	0.056
		0.05	160	8.47	10.7	0.128	0.153
		0.10	160	8.95	11.0	0.215	0.250
2	ナイヤガラ	0	473	9.14	10.9	0.041	0.059
		0.08	191	8.57	11.2	0.175	0.253
		0.10	122	8.84	10.5	0.158	0.218

実験番号	葡萄品種	重合燐酸塩添加 %	直接還元糖	総酸	アルコール	正燐酸	全燐酸
3	デラウェア	0	438	8.35	14.2	0.033	0.040
		0.04	257	9.50	13.5	0.143	0.175
		0.08	254	9.91	13.2	0.225	0.270
4	デラウェア	0	827	8.27	11.9	0.028	0.047
		0.06	2457	8.70	11.2	0.100	0.160
		0.06	1931	8.36	12.9	0.098	0.140
		0.10	1724	9.02	12.0	0.150	0.220
		0.09	1736	8.72	11.7	0.133	0.225
5	デラウェア	0	144	9.23	10.7	0.032	0.049
		0.05	244	8.47	12.9	0.143	0.163
		0.05	159	8.74	13.0	0.145	0.133
		0.10	255	8.31	12.9	0.263	0.275
		0.10	157	8.60	13.4	0.288	0.295
6	マスカットベアリーA	0	137	9.02	13.0	0.083	0.098
		0.02	230	8.84	13.9	0.168	0.180
		0.05	158	9.38	13.0	0.238	0.263
		0.10	201	9.47	13.0	0.355	0.418
7	甲州	0	136	7.07	13.0	0.055	0.068
		0.05	124	7.32	13.0	0.193	0.230

(5) 人工合成果汁の醱酵，人工合成果汁の調製は，その有機酸組成については楠田[14]及び楠田，丸山[15]の報告を，燐酸の含有量については高野，矢吹[16]の報告を，他の成分については Henneberg のペプトンを含む培地組成を参照して第4表の如きものを作った．

第4表　人工合成培地の組成及び分析値

酒石酸	2.34 g	蔗糖	120 g
りんご酸	1.92 〃	ペプトン	4 〃
乳酸(75%乳酸)	0.45 〃	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1.6 〃
こはく酸	0.93 〃	ポリ燐酸塩	0.374 〃
酢酸	0.57 〃	水	800 ml
KH_2PO_4	0.363 〃		

分析値，正燐酸　0.110mgP/ml
全燐酸　0.260mgP/ml
滴定酸度　9.04ml N/10 NaOH
(6.78g酒石酸/lに相当)

この人工合成果汁を8日間室温に放置してその間正燐酸，全燐酸の定量を行ない，その後乾燥パン酵母2gを加え更に8日間醱酵させた．この果汁のpHは3.6にしたため，ポリ燐酸塩の加水分解を避けるために加熱殺菌はしなかった．分析結果を第5表に示す．

正燐酸の増加は酵母添加前は殆ど認められないが酵母添加後30分で既にある程度の増加が見られ，醱酵の経過と共に著しく増加する．このことは藤巻，津田[1]が肉製品にポリ燐酸塩を添加後加熱処理までに時間が

第5表　人工合成果汁醱酵中の燐酸塩の消長

日　順	正　燐　酸	全　燐　酸	滴定酸度	アルコール	pH
	mgP/ml	mgP/ml	g/l	vol.%	
1	0.110	0.260	6.78	0	3.6
4	0.118	0.250			
8	0.123	0.250			
乾燥酵母添加					
8(酵母添加後30分)	0.135	0.250			
9	0.203	0.243			
13	0.183	0.235			
16	0.180	0.210	8.20	9.5	3.4

かかると保水効果が減少することを報告していること，又柘植，吉田[17),18)]が植物はポリ燐酸塩が正燐酸に加水分解されてから吸収されるであろうと考えていること，及び Sumner and Somers[19)]が酵母中に pyrophosphatase, metaphosphatase を含んでいるとしていること，等を併せ考察するとこの実験結果もポリ燐酸塩は醱酵過程中に生理的に加水分解を受けたものと解釈出来ると考えられる．

又全燐酸も醱酵の進行とともに減少しているがこれは高野，矢吹[15)]がブドウ果汁の醱酵中の燐酸の消長について報告した結果と一致し燐酸が酵母体内にとりこまれて，醱酵液中から消失したためであろう．

このように醱酵に際してポリ燐酸塩を添加するとその大部分が加水分解を受けて正燐酸に変化し，その効果は相当程度減少するものと考えなくてはなるまい．

要　　約

(1) ブドウ果汁にポリ燐酸塩を加えて醱酵させその影響をしらべた．

(2) 果汁の搾汁率はポリ燐酸塩添加による影響は認められなかった．

(3) 醱酵果汁の一般組成はポリ燐酸塩添加により影響を受けない．燐酸の含量はポリ燐酸塩を添加すれば勿論増加するが，その大部分は正燐酸であって，ポリ燐酸塩は生理的な加水分解を受けたものと思われる．

(4) 醱酵果汁の組成に近いものを人工的に作り之にポリ燐酸塩を加えて醱酵させたところ，その殆どが正燐酸に変化することが確かめられた．

(5) 醱酵果汁の吸光度はポリ燐酸塩添加により大きな値が得られ，色素の抽出又は色素の安定化に効果があったものと考えられる．

文　　献

(1) 藤巻，津田：農産技研誌，5,62 (1958)

(2) 藤巻，倉林：農化，32,775 (1958)

(3) 花田，横尾，鈴木，山口，吉田：栄養と食糧11,10 (1959)

(4) BERG,H.W. and AKIYOSHI, N.: Food Research, 22,373, (1957)

(5) BERG, H. W. and AKIYOSHI, N: Food Research, 23,511 (1958)

(6) JOSLYN, M. A. and LUCKTON, A. : Food Research 21,384. (1956)

(7) PETERSON, R. G., JOSLYN, M. A, and CURBIN, P. W.: Food Research, 23,518. (1958)

(8) 森永，財満，加賀美：材料試験．8,815. (1959)

(9) 櫛田，丸山：農産技研誌，7,206．(1960)
(10) 小林，田淵：農化，28,171 (1954)
(11) ALLEN. R. J. L, : Biochem.J., 34,858 (1940)
(12) 風間，倉田，加賀美：醸協，255 (1951)
(13) 櫛田，丸山：山梨大醱酵研，6,57 (1959)
(14) 櫛田：農産技研誌3.197 (1956)
(15) 櫛田，丸山：農化，32,58．(1958)
(16) 高野，矢吹：千葉大園芸，4,74 (1956)
(17) 柘植，吉田：土壌肥料．28,497 (1958)
(18) 柘植，吉田：土壌肥料29,1．(1958)
(19) SUMNER, J. B. and SOMERS, G. F. : Chemistry and Methods of Enzymes. (1953) p.93 (Academic Press Inc. New york.)

Summary

(1) The influences of polyphosphate on wine-making were examined.

(2) No significant influence on the amount of free run juice from grapes was observed, but the color extraction from grapes to musts and wines was somewhat increased.

(3) The amount of polyphosphate decreased during the must fermentation, and this was considered to be the result of hydrolysis of polyphosphate by yeast.

トマトの色調について

竹花秀太郎・小倉長雄・島村誠一
（農産製造学研究室）

Hidetaro Takehana, Nagao Ogura, and Seiichi Shimamura ;
Color of Tomato Fruits.

緒　　言

トマト加工に於て，原料トマトの品質及び成分が，加工品の品質に及ぼす影響が大きい事はいうまでもなく，加工用を目的とした品種が品種改良により作り出されている．

加工を対照とした場合，原料トマトの具えるべき条件としては，果汁が高濃度，高粘度であること（製造歩留り，触覚等の点から），適度の糖分，酸分，香気成分を含有すること（風味の点から），等種々の点が考えられるが，良好な色調，即ち鮮かな深紅色をもつ事が重要な条件の一つである事は，数年前までトマトサーデイン等の水産缶詰の原料として，国産トマトビューレーが用いられる事が少なかった事からも首肯出来る．しかし，我国に於ても，最近，加工用を対照として，多くの品質の優れた品種が作り出され，又，栽培条件，加工設備等に於ても多くの改良，変革が行われ，加工製品の品質が著しく向上の傾向を示している．

トマト特有の色調は，果汁中に懸濁している不溶性色素，即ちリコピン，カロチン，キサントフィル等のカロチノイド系色素によるもので，特にリコピン含量の多少がトマトの深紅色に最も大きな影響をもつ．

トマトの成分については多くの報告があり，角谷[1]は多くの文献を紹介しており，これには色素に関するものも含まれている．

著者等は当学部蔬菜園芸学教室で栽培された加工用品種について，原料トマトの分析を行い，色調を比較し，又加工の際の色調の変化，リコピン等色素の分析を行ったので報告する．

尚本研究の費用の一部は日本園芸生産研究所に仰いだ．深甚の謝意を表する．又原料トマトの御恵与を頂いた藤井健雄教授始め，蔬菜園芸学教室員の各位に深甚の謝意を表する．

実　　験

I 実 験 材 料

(1) 試 験 品 種

生食加工兼用種：みのり，しなの，珠玉，豊前2号，長岡交配マゼステイ

加工用種：サン・マルツァーノ

生食用種：ひかり

(2) 試 料 条 件

(i) 新 鮮 トマト

完熟したものを収獲後なるべく速かに果皮，果蒂，種子を除き，果肉の部分を破砕器によりパルプとする．（即ち熱処理を行わないもの）．

(ii) トマトパルプ

完熟したものを集め，常法通り短時間ブランチングを行い，トマトパルパーを通して得られたパルプを缶詰とし（脱気95℃，15分；殺菌＝100℃，30分），分析の都度開缶して試料とした．（即ち短時間加熱したもの）

(iii) トマトピューレー

（a） トマトパルプを直火で約1/2容に濃縮し，パルプと同様に缶詰とした．（即ち高温長時間加熱したもの）

（b） トマトパルプを減圧（Hg25mm）50℃以下で約1/2容に濃縮し，同様缶詰とした．（即ち低温長時間加熱したもの）

Ⅱ 実 験 方 法

(1) パ ル プ 収 率

単位重量の原料より得られるパルプ収量を測り百分率で表わした．

(2) 物理的性状及一般成分

（i） 屈 折 計 示 度

試料を10,000r.p.m. 5分間遠心分離して得られた上澄液を手持検糖計により測定した．

(ii) 比　　重

屈折計示度×0.0043＋0.9989

(iii) 粘　　度

前と同様上澄液をオストワルド粘度計により測定し，水との相対粘度として表わした．

(iv) 全 固 形 量

試料を蒸発乾固した後，95℃で4時間乾燥し，百分率で表わした．

（v） 全　　糖

前出の屈折計示度の場合と同様にして遠心分離により得られた上澄液を試料とし常法通り Bertrand 法を用い，グルコースとして表わした．

(vi) 全　　酸

前と同様上澄液を試料としアルカリ滴定によりクエン酸として表わした．

(3) 色　調　度

（i） 反射光比色法

試料を遠心分離分離し，過剰の水分を除いたものを比色試料とした．比色にはコタキ製 AKA 光電比色計5号D型を用いた．即ちMgOを標準白色とし，積分球を用いて得られる反射光を夫々 470,530,650mμ（フイルター番号3,5,10）を透過した場合の吸光度を測定して夫々 Y, R, Bとし，次式により色調度を算出した．

$$色調度 = R\left(\frac{1}{Y} - \frac{1}{B}\right)$$

山田[2]によれば4.3以上を上，4.3～3.5を中，3.5以下を下としている．

(ii) 抽 出 比 色 法

試料からカロチノイド系色素を抽出し，その溶液を用いて光電比色計により吸光度を測定し，標準曲線より換算して色素含量を定量した．

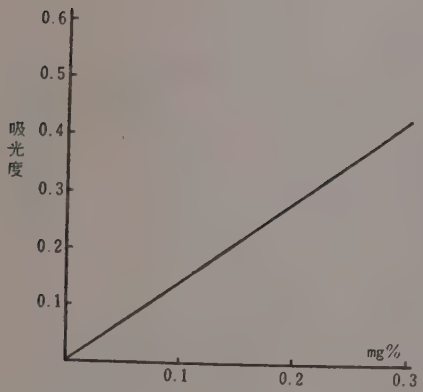
色素の抽出法は木村[3]の方法を用いた．即ち試料を遠心分離して得られた果肉部1grをとり，約2時間メ

タノールに浸漬して色素（主としてカロチン）を抽出し，その残渣にメタノールを注加しながら沪過を行い，抽出液及沪液を一定容としこれをメタノール可溶部とする．

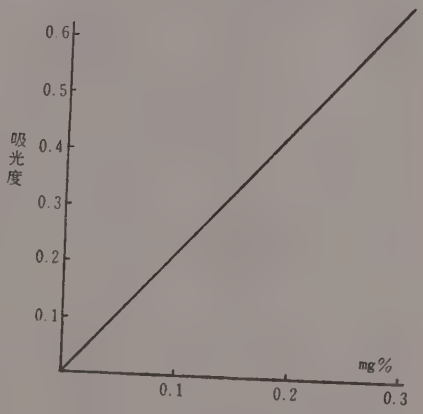
次にメタノール抽出残渣にベンゾールを注加しながら吸引沪過を行って色素（主としてリコピン）を抽出し，沪液を一定容とし，これをベンゾール可溶部とする．

標準曲線作成のためのカロチンは市販品を用い，リコピンはトマトより分離精製した結晶を用いた．即ちトマトから30%アセトン，石油エーテル混液によりリコピンを抽出し，これをベンゾール，メタノール混液（1：3）より再結晶精製を行った．

これらカロチンのメタノール溶液及リコピンのベンゾール溶液の470mμに於ける吸光度を測定して標準曲線を作成し，（第1図及び第2図）トマト試料のメタノール可溶部及びベンゾール可溶部の470mμに於ける吸光度を測定し，夫々カロチンのmg%，リコピンのmg%として表示した．



第1図　カロチン吸収曲線（470mμ）



第2図　リコピン吸収曲線（470mμ）

(4) 色素の分離定量

試料の調製は色調度の測定の抽出比色法と同様に行った．即ち試料を遠心分離して得られた果肉部をメタノール及びベンゾールで抽出し，夫々の抽出液を減圧で濃縮乾固して得られた色素沈澱物をカラムクラマトグラフ法により夫々の色素に分離し，その吸光度を測定して標準曲線より算出してmg%で表わした．即ちメタノール抽出液より得られた色素は石油エーテルの少量に溶解し，活性アルミナを充塡したカラムに注ぎ，5%アセトン・石油エーテル混液を注加してカロチンを分離し，470mμに於ける吸光度を測定する．又ベンゾール抽出液より得られた色素は同様に石油エーテル溶液とし，カラムに注ぎ，30%アセトン石油エーテル混液を注加し，リコピンを分離し，470mμに於ける吸光度を測定する．

この様にして得られたカロチン及リコピンの値をメタノール及びベンゾール可溶部の色調度と比較した．

実験結果及び考察

(1) パルプ収率

結果は第1表の通りである．

以上の結果よりサン・マルツアーノのパルプ収率は極めて高く，しなの，タキイ256号が劣る．

第1表 パルプ収率

材料	原料果実 (kg)	パルプ収量 (kg)	収率 (%)
みのり	10.4	8.4	80.8
珠玉(A)	9.5	7.8	81.8
サンマルツアーノ(A)	13.2	12.3	93.1
しなの	5.8	4.2	72.4
豊前2号	7.0	5.5	78.5
長岡交配マゼステイ	5.0	4.2	84.0
サンマルツアーノ(B)	7.0	6.1	88.2
珠玉(B)	7.0	5.3	75.5
タキイ256号	1.3	0.9	69.2

註) A＝1960年 B＝1961年 収獲

(2) 物理的性状及び一般成分

新鮮トマト果実の分析結果は第2表の通りである.

第2表 新鮮トマト果実

材料	屈折計示度	比重	全固形分 (%)	全糖 (%)	全酸 (%)
豊前2号	4.9	1.021	6.10	3.59	0.44
長岡交配マゼステイ	4.0	1.017	6.00	3.44	0.45
サン・マルツアーノ(B)	5.2	1.022	6.18	3.47	0.44
珠玉(B)	5.2	1.022	5.96	3.62	0.45
タキイ256号	4.6	1.020	5.63	2.00	0.42
ひかり	—	—	5.35	—	—

以上の結果より全固形分はサン・マルツアーノに於て高く，タキイ256号，ひかりに於て低い値を示し，パルプ収率の値とよく一致している．又全糖はタキイ256号が特に少く，他は大差は認められず，全酸の値も略等しい値を示している．屈折計示度は区々で，全糖含量や全固形分との間に一定の関係は認められない．これは果汁構成分即ち還元糖，ペクチン，窒素化合物，アスコルビン酸等の成分が屈折計の示度に及ぼす影響が夫々異るためと考えられる．

トマトパルプの分析結果は第3表の通りである.

第3表 トマトパルプ

材料	屈折計示度	比重	粘度 (%)	全固形分 (%)	全糖 (%)	全酸 (%)	全窒素 (%)
みのり	3.8	1.015	5.96	3.51	—	0.58	0.08
珠玉(A)	4.6	1.019	24.4	4.49	—	0.46	0.10
サン・マルツアーノ(A)	4.6	1.019	13.7	4.39	—	0.52	0.12
しなの	4.8	1.020	15.8	4.41	4.41	0.53	0.09
豊前2号	6.0	1.026	—	—	3.92	0.45	—
長岡交配マゼステイ	6.6	1.028	—	—	4.25	0.46	—
サン・マルツアーノ(B)	5.8	1.025	—	—	4.11	0.46	—
珠玉(B)	5.8	1.025	—	—	3.90	0.47	—
タキイ256号	5.8	1.025	—	—	3.85	0.46	—
ひかり	6.8	1.030	—	—	4.75	0.55	—

珠玉(A)及びみのりに於て粘度の著しい差が認められるが，これはペクチン含量の影響と考えられる．又ひかりは全糖及び全酸含量が多いが，これは生食用として兼用種との間の風味の上で特徴の差を作っているのではないかと考えられる．

次にトマトピューレーの分析結果は第4表及び第5表の通りである．

第4表　直火（高温）濃縮ピューレー

材料	屈折計示度	比重	全糖 (%)	全酸 (%)
みのり	10.0	1.042	3.72	1.08
珠玉(A)	10.2	1.043	4.56	0.78
サン・マルツアーノ(A)	9.4	1.039	4.35	0.77
しなの	9.2	1.039	6.60	0.94
豊前2号	11.6	1.050	5.32	0.87
長岡交配マゼステイ	13.0	1.057	5.88	1.14
サン・マルツアーノ(B)	11.6	1.050	5.68	0.95
珠玉(B)	11.6	1.050	5.01	0.99
タキイ256号	11.2	1.048	5.38	1.08
ひかり	12.4	1.053	6.21	1.40

第5表　減圧（低温）濃縮ピューレー

材料	屈折計示度	比重	全糖 (%)	全酸 (%)
みのり	9.8	1.041	3.99	1.02
珠玉(A)	9.7	1.041	3.80	0.64
サン・マルツアーノ(A)	9.8	1.041	4.25	0.69
しなの	9.1	1.038	4.85	0.85
豊前2号	9.8	1.041	4.71	0.70
長岡交配アゼステイ	11.6	1.050	5.16	0.95
サン・マルツアーノ(B)	12.6	1.054	6.08	1.02
珠玉(B)	10.0	1.043	5.41	0.99
タキイ256号	10.0	1.043	5.27	1.07
ひかり	14.8	1.064	6.52	1.58

以上の結果よりパルプを約半量に濃縮したために，屈折計の示度及び全酸は何れもその値が2倍前後に増加している．これに対して全糖の増加割合は1.2倍～1.4倍程度にすぎない．このことから酸の存在の下に於ける糖自身の酸化，窒素化合物との反応等による褐色化反応に可成りの糖成分が関与し，消費されるものと考えられる．この際直火と減圧の差は大きい影響は与えていない．

以上の結果より加工兼用種各品種間に於て糖，酸の成分は顕著な差異は認め難く，生食用のひかりに比し，それらの含量は少い傾向が見られる．又濃縮の際の温度差がこれらの成分に及ぼす影響も殆んど認められない．

(3) 色調度

新鮮トマト果実及びトマトパルプの色調度を測定した結果は第6表及び第7表の通りである．

色調度を測定する方法として反射光の吸光度を測定する方法と抽出液の透過光の吸光度を測定する方法を並用した．この結果，新鮮トマトの場合，反射光比色法に於ては珠玉が高い値を示し，タキイ256号が色調

第6表　新鮮トマトの色調度

材料	反射光比色法				抽出比色法		肉眼
	Y	R	B	色調度	メタノール可溶部	ベンゾール可溶部	
					(mg%)	(mg%)	
豊前2号	1.12	1.12	0.35	4.2	1.74	13.60	＋＋
長岡交配マゼステイ	1.12	1.11	0.34	4.3	1.12	12.54	＋
サン・マルツアーノ(B)	1.12	1.12	0.35	4.3	2.06	13.80	＋＋
珠玉(B)	1.12	1.12	0.29	4.6	1.18	11.18	＋
タキイ256号	1.12	1.12	0.38	3.8	1.07	8.67	±
ひかり	—	—	—	—	0.87	7.20	±

第7表　トマトパルプの色調度

材料	反射光比色法				抽出比色法	
	Y	R	B	色調度	メタノール可溶部	ベンゾール可溶部
					(mg%)	(mg%)
豊前2号	1.12	1.12	0.37	4.0	1.60	12.45
長岡交配アゼステイ	1.12	1.11	0.34	4.0	1.03	11.73
サン・マルツアーノ(B)	1.12	1.11	0.36	4.2	1.62	13.10
珠玉(B)	1.11	1.11	0.36	4.1	1.13	10.38
タキイ256号	1.12	1.11	0.43	3.6	0.90	8.22
ひかり	1.12	1.12	0.45	3.5	0.79	7.00

の悪い結果が出た．これに対し抽出比色法ではサン・マルツアーノ，豊前2号が高い値を示し，ひかり及びタキイ256号が低い値を示しており，特にリコピンを主として溶解していると考えられるベンゾール可溶部の含量と肉眼による観測結果とがよく一致している．

反射光比色法による色調度も大体肉眼による観測値と一致しているが，抽出比色法による結果から，カロチン及びリコピン含量が品種によりかなり差異がある様に思われるにも拘らず，これらの色素含量と相関関係にあると考えられるY，及びRの吸光度が何れの品種に於ても殆んど差異が認められない．

トマトパルプの色調は新鮮トマトと殆んど同様の傾向を示している．しかし反射光比色法に於て色調度が稍劣り，又抽出比色法の結果からリコピン，カロチン共に減少している事が認められる．これはブランチング及び缶詰殺菌の際の加熱によるこれら色素成分の変化及び褐色化反応の進行によるものと考えられる．

次にピューレーの色調度を測定した結果は第8表及び第9表の通りである．

第8表　直火（高温）濃縮ピューレーの色調度

材料	反射光比色法				抽出比色法	
	Y	R	B	色調度	メタノール可溶部	ベンゾール可溶部
					(mg%)	(mg%)
豊前2号	1.13	1.12	0.43	3.6	1.20	12.08
長岡交配マゼステイ	1.13	1.11	0.36	4.0	0.80	11.44
サン・マルツアーノ(B)	1.12	1.11	0.37	4.1	1.26	12.97
珠玉(B)	1.13	1.11	0.40	3.8	0.83	10.00
タキイ256号	1.14	1.11	0.41	3.7	0.56	7.93
ひかり	1.14	1.11	0.50	3.2	0.47	6.87

第9表　減圧（低温）濃縮ピューレーの色調度

材料	反射光比色法				抽出比色法	
	Y	R	B	色調度	メタノール可溶部 (mg%)	ベンゾール可溶部 (mg%)
豊前2号	1.12	1.11	0.40	3.8	1.38	12.23
長岡交配マゼステイ	1.12	1.11	0.36	4.1	1.03	11.69
サン・マルツアーノ(B)	1.12	1.12	0.41	3.7	1.41	13.06
珠玉(B)	1.12	1.11	0.39	3.8	0.90	10.51
タキイ256号	1.12	1.11	0.43	3.6	0.87	7.95
ひかり	1.12	1.11	0.46	3.4	0.61	6.89

以上の結果からピューレーの色調が新鮮トマト及びトマトパルプの色調に劣り，特に直火で濃縮した場合に於て劣化の程度が稍著しい傾向が明らかである．

抽出比色法に於てその傾向は明瞭に表われていて，この事から加熱によりリコピン，カロチン共に減少する事を示している．

反射光比色法に於てY及びBの値が増大しているが，これは褐色化反応の進行を表わしているものと考えられる．

又反射光比色法に於てサン・マルツアーノ及びタキイ256号が減圧濃縮のものが直火濃縮のピューレーよりも色調度が低い値を示している．これはBの吸光度の値が大きいためで，肉眼では殆んど差異は認められないが本法に於ては水分含量の差異が大きく影響するので，そのためと考えられる．

(4)　色素の分離定量

トマト果肉を試料とし，活性アルミナクロマトグラフで分離を行ったが，メタノール可溶部を試料とした場合は先ず最初にカロチンが降下してくるのでこれをとり出して一定容とし，470mμで吸光度を測定した．カラムの上部には尚3つの色素の層が残っていたので，メタノール可溶部にはカロチンを含めて4種の色素が存在する．定量結果は第10表の通りである．

第10表　トマト果肉中のカロチン

材料	メタノール可溶部 (mg%)	カロチン (mg%)	カロチン/メタノール可溶部×100	カロチン以外の色素 (mg%)
長岡交配アゼステイ	4.72	3.37	71.40	1.35
タキイ256号	4.15	3.00	72.28	1.15
ひかり	3.95	2.88	72.91	1.07

以上の結果から各種共メタノール可溶部に溶解する色素の約72%がカロチンである．

同様にベンゾール可溶部を試料として分析を行った結果は第11表の通りである．

第11表　トマト果肉中のリコピン

材料	ベンゾール可溶部 (mg%)	リコピン (mg%)	リコピン/ベンゾール可溶部×100	リコピン以外の色素 (mg%)
長岡交配マゼステイ	39.31	38.68	97.13	0.63

以上の結果からベンゾール可溶部に溶解する色素のリコピンが約97%を占める．

要　　約

加工用トマトは一般に色調が優れており，特にリコピン含量の高いものが良好である．

リコピンはベンゾールによって容易に抽出され，これを比色分析する事によって簡単に定量出来る．

リコヒンは加工の際の加熱により一部変化をうけ，色調は低下する．その変化の程度は加熱温度よりも加熱時間により大きく影響される．

加熱により糖成分が変化をうけ褐変化反応がおこり，色調に劣化に大きい影響を与える．

引 用 文 献

1）角谷廸男：農産技研誌 3，131 (1956)

2）山田耕二：農産技研誌，2，68 (1955)

3）木村進：農産技研誌，3，200 (1956)

Summary

1. Tomato fruits, belonging to the processing species, has better color than the vegetable species, because they have higher contents of lycopene.

2. Lycopene can be easily extracted by benzol and rapidly determined by the colorimetric analysis.

3. Lycopene is reacted by the heat of processing and then the color.fades.

4. Sugar components also react the heat, and then the browning reaction is observed and as a result the cobor tone is affected.

酵母懸濁液によるローダミンBの吸着に関する研究

矢　吹　　稔
（応用微生物学研究室）

Minoru YABUKI : Studies on the Adsorption of Rhodamine-B by Suspension of the Yeast.

緒　　言

BORZANI and VAIRO (1959) はSaccharomyces cerevisiae 及び数種のグラム陽性菌とグラム陰性菌を熱処理によって死滅させたものの懸濁液がクリスタル紫を吸着する現象について研究し，グラム陽性菌は色素を定量的に吸着するがグラム陰性菌は菌の重量と吸着色素量との間に一定の関係がないと報告している．しかし FINKELSTEIN and BARTHOLOMEW (1960) はこの実験を追試して，グラム陽性菌も陰性菌も全く同様に菌の重量と色素吸着量には一定の関係があって，BORZANI and VAIRO はクリスタル紫の定量に用いた吸収波長の選択に誤りのあったこと，及び菌懸濁液中の菌数が少なすぎ，従って色素吸着量の測定誤差が大きくなったのであろうと指摘している．何れにしても死滅微生物細胞懸濁液が或一定の方式に従って色素の吸着を行なうという点で之等の報告は一致している．

又BORZANI and VAIRO (1958) はメチレン青が死滅酵母細胞に吸着される現像について研究し，定量的に酵母の死滅率を測定する方法について述べている．即ち一定濃度のメチレン青溶液に一定濃度の酵母懸濁液を加え，充分に色素を吸着させたのちに残存する色素量を比色定量して酵母による色素の吸着量を求めこれより酵母の死滅率を算出している．しかしメチレン青は死滅酵母細胞は勿論，生きた酵母細胞にも幾分吸着されるので，その影響を小さくするため試料に予め死滅させた酵母を全量の50% になるように加え測定を行なっている．

OPPENOOTH (1958) は従来のメチレン青染色法による酵母死滅率測定法を改良し，メチレン青よりも忠実に酵母の死滅率を示す色素としてローダミンBを用いて好結果を得，同時にミクロマニプレーターを使用して染色された細胞を取り出し，発芽試験を行なってその結果を確かめ，更にメチレン青染色は pH の影響が大きいがローダミンBは広範囲の pH にわたって使用出来る点を指摘している．

著者はローダミンBが酵母細胞懸濁液に吸着される条件について若干の実験を行なったのでその結果をここに報告する．

実験材料及び方法

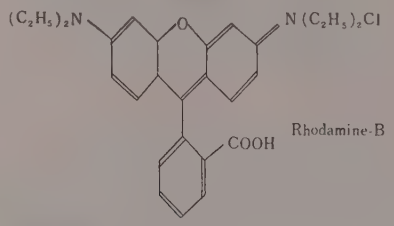
(1) 酵母懸濁液の調製

(a) Living yeast suspension (LYS) の調製，市販の圧搾酵母 80g を秤量し，M/10 NaH_2PO_4(pH4.6) に投入 10 分間手でよく振り混ぜ，酵母の塊をほぐして均一な懸濁液になるように注意する．之を 3000rpm で遠心分離し，上澄液を捨てる．この操作を 3 回くりかえし，酵母をよく洗い，M/10 NaH_2PO_4 の 1l に懸濁し，之を LYS とする．

(b) Dead yeast suspension (DYS) の調製．LYS の1部をとり，沸騰水中に入れ90℃以上に10分間加熱後冷却し，LYS と全く同様にして2回洗い，懸濁液とし之を DYS とする．

顕微鏡で検査した結果 LYS はメチレン青にもローダミンBにも全く染色されず，DYS は全部染色されることを確めた．

(2) ローダミンB (Tetramethyl rhodamine) OPPENOOTH (1958) はスイス，ガイギー社の製品を使っているが手に入れることが出来なかったので，ドイツ，メルク製品 (zur Analyse) を用いた．



(3) 酵母懸濁液によるローダミンBの吸着

LYS と DYS とを組合せて種々の死滅率の酵母懸濁液 20ml を作り，これに 20ml の1/500 ローダミン B溶液を加え，100ml の3角フラスコ中で恒温水槽中で吸着を行わせ，10分間に1回よく振り混ぜ，1定時間後に恒温水槽から取り出し，3000rpm で酵母を遠心分離した上澄液の色素量を定量して酵母により吸着された色素量を算出した．

(4) ローダミンBの定量

(3)によって得られた上澄液 1ml を蒸溜水で 100ml に稀釈し．日立自記分光光度計を用いて 260mμ にて測定し，予め作成した検量曲線によって色素量を求めた．

結果及び考察

(1) ローダミンBの紫外部及び可視部吸光度曲線：Fig.1に220～340mμ の，Fig.2 に 340～700mμの吸光度曲線を示す．ローダミンBは 259mμ に大きな吸収を示し，且M/10 NaH_2PO_4,LYS又は DYS を添加しても，ローダミンBの吸光度の特性には何等の影響をも及ぼさず，且 DYS は相当量の色素を吸着することがわかった．

尚 560mμ にも鋭い大きな吸光度の山が認められた．

(2) ローダミンBの検量曲線：Fig.3 は検量曲線であるがローダミンBの1～15γ/ml 吸光度にして 0.1～1.0の範囲で測定が容易に行はれることがわかった．

(3) DYS によるローダミンBの吸着：死滅酵母細胞のみの懸濁液(生酵母 4g/100ml M/10 NaH_2PO_4)によるローダミンBの吸着を Fig.4 に示す．酵母濃度が極めて小さい部分では曲線の傾斜は急であり単位酵母当りの色素吸着量が大きい傾向を示すが他は略酵母濃度に比例して色素吸着量を増加することが認められた．大体において酵母数と吸着色素量とは比例的関係があると云うことが出来よう．

(4) 種々の死滅率を示す酵母懸濁液によるローダミンBの吸着：Table.1 に酵母懸濁液と色素溶液との混合物の組成を示す．

(i) 温度及び時間による吸着量の変化：Table.2に示したように DYS のみでなく LYS も色素を吸着することがわかった．即ち 15℃ では4時間後でも吸着量に変化はないが，30℃ になると吸着量は4～8倍に増加

1. 1/500 Solution of Rhodamine-B + Distilled water
2. 1/500 Solution of Rhodamine-B +M/10 NaH_2PO_4
3. 1/500 Solution of Rhodamine-B + LYS.
4. 1/500 Solution of Rhodamine-B + DYS

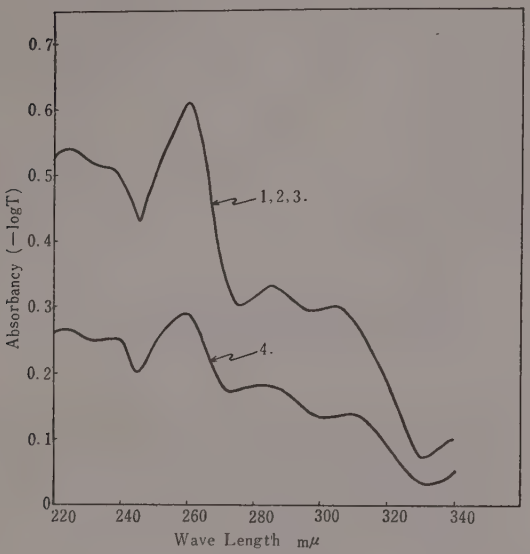


Fig. 1. Absorption spectrum of Rhodamine-B solution. Dye adsorption was under the condition of room tempera ture for 40 min. Rhodamine-B final conc. was 1/1,000,000.

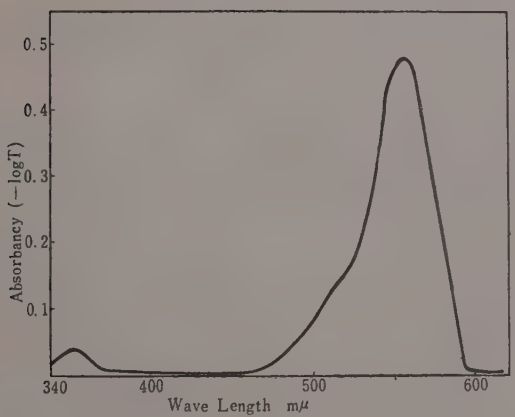


Fig. 2. Absorption spectrum of Rhodamine-B sol- ution. Rhodamine-B conc was 1/200,000

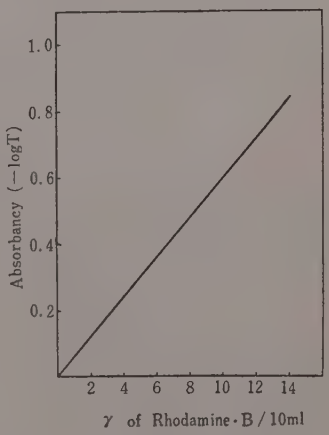


Fig. 3. Calibration curve of Rho- damine-B.

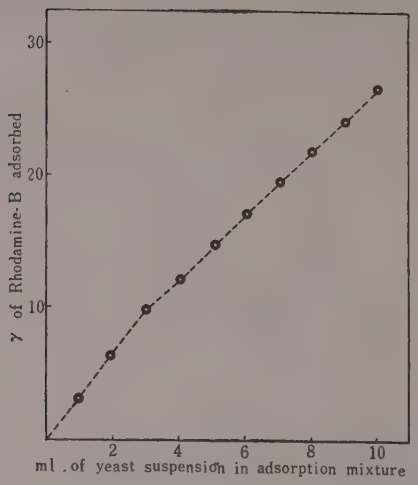


Fig. 4. Adsorption of Rhodamine-B by dead yeast suspension. Average values of triplicate experiment. Yeast conc. was 8g press yeast/100m*l* buffer soln. Temp. was maintained 30℃ in constant temperature bath.

する．一方DYSの色素吸着量はLYSのように温度に左右されること少なく，酵母と色素は接触後殆ど直ちに極限量の色素の吸着が行われるようである．

このことは生細胞と死細胞とでは色素に対する細胞膜の透過性が異り，死細胞膜に対しては色素は容易に通過し，生細胞膜は色素の透過性が少なく，且その透過性は温度の支配を受けるのではないかと考えられる．

Table.3 はこの関係を確かめるために30℃，10～50分にわたって経時的に測定を行なった結果であるが

Table 1. Composition of Dye Adsorption Mixture

DYS*	LYS*	Rate of Dead Cells of the System	1/500 Solution of Rhodamine-B
m*l*	m*l*	%	m*l*
0	20	0	20
5	15	25	20
10	10	50	20
12	8	60	20
14	6	70	20
16	4	80	20
18	2	90	20
20	0	100	20

* Yeast conc. was 80g. press yeast per 1000m*l* of M/10 NaH_2PO_4 solution.

Table 2. γ of Rhodamine-B adsorbed per ml of Dye Adsorption Mixture at various Conditions

Percent of Dead colls of Yeast Suspension	Temperature															
	15℃				20℃				25℃				30℃			
	Time in minutes															
	60	120	180	240	60	120	180	240	60	120	180	240	60	120	180	240
0	0.30	0.30	0.30	0.30	0.15	0.25	0.85	1.00	0.70	1.15	1.65	2.00	1.30	1.85	2.10	2.40
25	1.40	1.60	1.45	1.40	1.30	1.50	1.60	1.80	1.65	1.95	2.15	2.70	2.15	2.90	2.95	3.20
50	2.70	2.75	2.80	2.80	2.65	2.80	2.80	2.90	3.05	3.05	3.10	3.40	3.00	3.55	3.70	3.85
60	3.20	3.20	3.30	3.35	3.25	3.25	3.40	3.40	3.40	3.55	3.55	3.65	3.50	3.80	4.00	4.15
70	3.65	3.70	3.85	3.70	3.70	3.75	3.90	3.85	4.00	4.00	4.00	4.00	3.80	4.20	4.25	4.35
80	4.00	4.05	4.45	4.20	4.05	4.05	4.15	4.29	4.35	4.25	4.30	4.35	4.30	4.50	4.50	4.60
90	4.45	4.50	4.70	4.60	4.45	4.50	4.55	4.60	4.70	4.65	4.60	4.80	4.60	4.85	4.85	4.95
100	4.75	5.00	5.05	4.95	4.85	4.85	4.95	4.85	5.05	5.05	5.10	5.05	5.05	5.05	5.05	5.05

Temperature was maintained in constant temperature bath. At the desired time intervals, the aliquot was taken from the mixture, centrifuged at 3,000 r.p.m for 10 min., supernatant was diluted 100 times, then subjected to spectrophotometric analysis at 260 mμ using Hitachi Recording Spectrophotometer.

Table 3. γ of Rhodamine-B adsorbed by Yeast Suspension at 30℃ in various Incubation Time*

Per cent of Dead Cells of Yeat Suspenslion	Time in Minutes							
	10	20	25	30	35	40	45	50
0	0.30	0.60	0.70	1.05	1.25	1.55	1.40	2.00
25	1.60	2.05	1.90	2.00	2.15	2.30	2.25	2.45
50	2.70	3.00	3.10	3.05	3.10	3.25	3.00	3.20
60	3.60	3.50	3.60	3.55	3.60	3.65	3.60	3.75
70	3.75	3.65	3.95	3.90	4.00	4.00	4.05	4.05
80	4.15	4.30	4.35	4.30	4.40	4.40	4.45	4.45
90	4.65	4.65	4.80	4.38	4.80	4.85	4.85	4.85
100	5.05	5.10	5.10	5.05	5.15	5.20	5.20	5.20

* Experimental conditions were the same to that of Table2.

第2表と全く同様の傾向を示す結果が得られた.

(ii) Table4. には購入及び調製の月日を異にする酵母懸濁液による色素吸着量を測定した結果を示してある. 酵母乾物量は WHITE(1954) の方法で測定した. その結果同一の懸濁液については調製後1週間の冷蔵庫貯蔵では吸着量に大差はなく, 酵母の購入日又は調製日の異った懸濁液についても大体に於て同様の結果が得られた. 又酵母乾物量もこの実験の範囲内では色素吸着量に大きな変化を与えなかった.

死滅率 50% 以下の懸濁液の色素吸着量には相当大きな開きがみられ且その傾向が一定でないが之は酵母と色素との接触中よく攪拌するように振盪器等を用いれば防げることかも知れない. 何れにしても前に述べたように生細胞による色素の吸着は死細胞の吸着よりも現像が複雑で影響する因子も多いことからこの実験値のバラツキがあらわれたと考えられる. 死滅率 50% 以上の酵母懸濁液については色素の吸着量の変化は略一定の値を示し 5% の差の範囲内で一致するものが多い. このことは前述のように死細胞による色素の吸着が割合に簡単な方式によるものであろうことを示しているように考えられる.

Table 4. γ of Rhodamine-B adsorbed by various Preparations of Yeast Suspensions.*

Per Cent of Dead yeast cells of the Suspension	Date of the Experiment											
	2.17	2.21	2.23	2.23	2.27	2.27	3.7	3.3	3.9	3.13	3.14	3.17	3.22	3.22
0	1.40	1.65	1.00	1.20	0.50	0.80	0.60	1.05	1.00	1.05	0.50	0.85	0.65	
25	2.25	2.35	2.15	2.35	1.95	2.10	2.05	2.50	2.15		2.10	2.20	2.20	
50	3.20	3.25	3.30	3.35	3.45	3.65	3.30	3.55	3.40	3.50	3.40	3.55	3.35	3.30
60	3.65	3.65	3.70	3.85	3.65	3.75	3.80	3.90	3.70	3.90	3.80	4.05	3.80	3.80
70	4.00	4.00	4.15	4.40	4.15	4.25	4.20	4.30	4.35	4.45	4.20	4.55	4.25	4.25
80	4.40	4.40	4.55	4.70	4.55	4.60	4.65	4.75	4.55	4.60	4.70	4.90	4.60	4.55
90	4.80	4.80	4.95	5.05	4.85	4.95	5.05	5.35	5.10	5.05	5.10	5.30	5.00	5.00
100	5.20	5.20	5.35	5.45	5.25	5.45	5.45	5.75	5.50	5.45	5.35	5.60	5.35	5.30
Suspension was prepared at	2.7		2.22		2.24			3.2			3.10			
Press yeast was purchased at	1.31		2.22		2.22			2.22			3.10			
Yeast dry matter LYS mg/ml	20.69		22.13		22.80			23.04			22.36			
DYS mg/ml	16.28		17.54		18.76			18.52			18.36			

* Experiment was made at 30℃ for 40 min. Other conditions were the same as bafore.

之等の点を考慮するとき BORZANI and VAIRO (1958) が酵母死滅率測定をメチレン青吸着法で行なうときに，予め熱処理て死滅させた酵母を50%加えて常に死滅率50%以上になるような試料について実験を行なった考慮は妥当なものと考えられる．然し5%以上の精度で酵母の死滅率を測定出来るような結果を得ることは出来なかった．

尚本研究は著者が昭和35年度文部省内地研究員として工業技術院発酵研究所において行なった実験の一部であり，終始御指導を頂きました同所第1部長七字三郎氏，岩本博道技官に対し，又種々御鞭達を頂いた本学部高野一郎助教授に対し厚く感謝の意を捧げる次第であります．

要　　約

圧搾酵母の懸濁液がローダミンBを吸着する現像について実験を行ない次の結果を得た．

(1) 熱処理をして死滅させた酵母はよく色素を吸着し，その吸着量は温度時間の影響を受けること少なく，接触後殆ど直ちに極限量の色素を吸着する．

(2) 生きた酵母細胞も色素を吸着するがその吸着量は温度，時間の増大により増加し，且実験のたびに得られる値に開きが大きい．

(3) (1)と(2)の結果から生細胞による色素の吸着は現像が複雑であろうと推論した．

(4) 色素の吸着量の測定を酵母の死滅率の測定に応用する方法について述べた．

文　　献

W. BORZANI and M. L. R. VAIRO : Quantitative adsorption of methylen blue by dead yeast cells. J. Bacteriol. 76 : 251 (1958)

W. BORZANI and M. L. R. VAIRO : Quantitative adsorption of crystal violet by dead microorganisms. J. Bacteriol. 77 : 757 (1959)

H. FINKELSTEIN and J. W. BARTHOLOMEW : Dye uptake by Gram positive and Gram negative cells as related to adsorption laws. J. Bacteriol. 80 : 14 (1960)

W. F. F. OPPENOOTH : Ueber den Nachweis von toten hefezellen mittels Farbverfahren. Brauwissenschaft 11 : 113 (1958)

J. WHITE : Yeast Technology (1954) Chapman and Hall. London.

Summary

Studies were made on the adsorption of rhodamine-B by the suspension of yeast under various conditions.

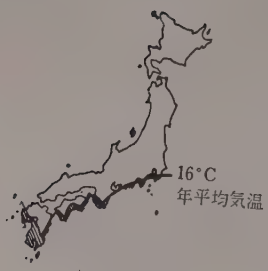
(1) Heat treated dead yeast cells adsorbed rhodamine-B, and its adsorption was little affected by temperature and time of dyeing. The amount of adsorbed rhodamine-B was nearly in linear relationshp with the amount of dead yeast employed.

(2) Living yeast cells also adsorbed rhodamine-B, however, its adsorption was very little when compared with that of dead yeast cells. In this case the adsorption was much influenced by temperature and time of dyeing.

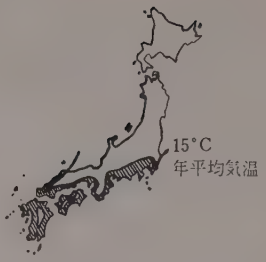
(3) These results showed that the dye-uptake by living yeast cells is a more complex one than does the dead yeast cells.

(4) Discussion was made on the method of determining the rate of dead cells of yeast preparation using rhodemine-B.

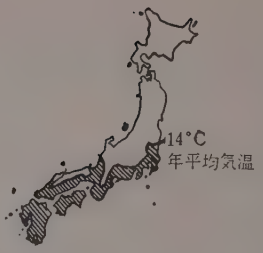
造　園　学　科



Distr. Type C-Ⅰ



Distr. Type C-Ⅱ



Distr. Type C-Ⅲ

Distr. Type C-Ⅳ

Distr. Type D

Distr. Type E-Ⅰ

Distr. Type E-Ⅱ

Distr. Type E-Ⅲ

Distr. Type F

Ⅲ. 各分布型に属する樹種

Type A

ハクウンボク *Styrax Obassia* 朝鮮，満州，中国にも分布.

ミズキ *Cornus controversa* 千島，南部からヒマラヤにも分布.

ハリギリ *Kalopanax pictus* カラフト，ウスリー，朝鮮，中国にも分布.

サルナシ *Actinidia arguta* カラフト，ウスリー，朝鮮満州にも分布.

マタタビ *Actinidia polygama* カラフト，ウスリー，朝鮮，満州にも分布.

シナノキ *Tilia japonica* 中国にも分布.

トチノキ *Aesculus turbinata* 日本特産.

イロハモミジ *Acer palmatum* 朝鮮にも分布.

イタヤカエデ *Acer mono* 朝鮮，満州，アムール，中国，カラフトにも分布.

ツルウメモドキ *Celastrus orbiculatus* カラフト，南千島，朝鮮中国にも分布.

ニシキギ *Euonymus alatus* 朝鮮，満州，中国にも分布.

ツルマサキ *Euonymus Fortunei* var. *radicans* 琉球，朝鮮，中国にも分布.

イヌツゲ *Ilex crenata* カラフト，千島，琉球，朝鮮，中国にも分布.

ウメモドキ *Ilex serrata* 中国にも分布.

ツタウルシ *Rhus ambigus* カラフト，千島，台湾，中国にも分布

ヤマウルシ *Rhus trichocarpa* 千島南部，朝鮮，中国にも分布.

ニガキ *Picrasma quassioides* 台湾，朝鮮，中国にも分布.

キハダ *Phellodendron amurense* カラフト，千島南部，朝鮮にも分布.

ヤマハギ *Lespedeza bicolor* (*L. homoloba, L. cyrtobotrya*) を含む.

クズ *Pueraria lobata* 朝鮮，中国にも分布.

イヌエンジュ *Maackia amurensis* var. *Buergeri*

ナナカマド *Sorbus commixta* カラフト，千島南部にも分布.

ノリウツギ *Hydrangea paniculata* カラフト，千島南部，中国にも分布.

イワガラミ *Schizophragma hydrangeoides* 朝鮮にも分布.

コブシ *Magnolia kobus* 済州島にも分布.

ホオノキ *Magnolia obovata* 中国にも分布.

カツラ *Cercidiphyllum japonicum* 日本特産.

ハルニレ *Ulmus Davidiana* var. *japonica* カラフト，千島，朝鮮，中国北部，シベリア東部にも分布.

コナラ *Quercus serrata* 千島南部，朝鮮，中国にも分布.

ミズナラ *Quercus mongolia* var. *grosseserrata* カラフト，千島にも分布.

カシワ *Quercus dentata* 千島南部，朝鮮，中国にも分布.

ハンノキ *Alnus japonica* 朝鮮，中国，ウスリーにも分布.

ヤマハンノキ *Alnus hirsuta* カムチャッカ，シベリヤ東部，朝鮮，満州にも分布.

アサダ *Ostrya japonica* 朝鮮，中国にも分布.

オニグルミ *Juglans ailantifolia* 日本特産.

ネコヤナギ *Salix gracilistyla* 中国，朝鮮にも分布.

イチイ *Taxus cuspidata* 千島にあり.

Type B

タニウツギ *Weigela hortensis* 日本特産.

チシャノキ *Ehretia ovalifolia* 奄美大島，済州島，中国にも分布.

レンゲツツジ *Rhododendron japonicum* 日本特産.

ツクシシャクナゲ *Rhododendron Metternichii* 日本特産.

シャクナゲ *Rhododendron Metternichii* var. *pentamerum* 日本特産.

モチツツジ *Rhododendron macrosepalum* 日本特産.

サツキツツジ *Rhododendron indicum*

モクゲンジ *Koelrenteria paniculata* 朝鮮，中国にも分布.

サザンカ *Camellia sasanqua*

チドリノキ *Acer carpinifolium* 日本特産.

ミツデカエデ *Acer cissifolium* 日本特産.

オニモミジ *Acer diablicum* 日本特産.

ヒトツバカエデ *Acer distylum* 日本特産.

シロヤマブキ *Rhodotypos scandens* 散在，朝鮮，中国にも分布.

ヒウガミズキ *Corylopsis pauciflora* 日本特産.

トサミズキ *Corylopsis spicata* 日本特産.

ガクアジサイ *Hydrangea macrophylla*

タマアジサイ *Hydrangea involucrata*

オオヤマレンゲ *Magunolia sieboldii* 日本特産.

カザグルマ *Clematis patens* 散在，朝鮮，中国にも分布.

アベマキ *Quercus variabilis* 朝鮮，中国にも分布.

ハシバミ *Corylus heterophylla* var. *Thunbergii* 朝鮮，中国にも分布.

ノグルミ *Platycarya strobilacea* 朝鮮，中国にも分布.

サワラ *Chamaecyparis pisifera* 日本特産.

イブキ *Juniperus chinensis* 海岸に散在.

クロベ *Thuja standishii* 日本特産.

アスナロ *Thujopsis drabrata* 日本特産.

コウヤマキ *Sciadopitys verticillata* 日本特産.

シラベ *Abies veitchii* 本州特産.

トウヒ *Picea jezoensis* var. *hondoensis* 本州特産.

チョウセンゴヨウ *Pinus koraiensis* 朝鮮にも分布.

キタゴヨウマツ *Pinus parviflora* var. *pentaphylla* 日本特産.

コメツガ *Tsuga diversifolia* 日本特産.

ソテツ *Cycas revoluta* 琉球，中国南部にも分布.

Type C-Ⅰ

ドウダンツツジ *Enkianthus perulatus* 日本特産.

フヨウ *Hibiscus mutabilis* 中国にも分布.

Type C-Ⅱ

サンゴジュ *Viburunum Awabuki* 台湾，朝鮮南部にも分布.

ウンゼンツツジ *Rhododendron Serpyllifolium* 日本特産.

ハマヒサカキ *Eurya emarginata* 朝鮮南部，中国にも分布.

ヒメシャラ *Stewartia manadelpha* 日本特産.

ヒメユズリハ *Daphniphyllum Teiismanni* 朝鮮にも分布.

イスノキ *Distylium racemosum*

イヌガシ *Neolitsea aciculata* 朝鮮南部にも分布.

オガタマノキ *Michelia compressa* 日本特産.

イチイガシ *Quercus gilva* 台湾，中国にも分布.

ウバメガシ *Quercus phillyraeoides* 琉球海岸にも分布.

マテバシイ *Pasania edulis* 琉球にも分布.

センリョウ *Chloranthus glaber* 琉球，台湾，朝鮮南部，中国にも分布.

ナギ *Podcarpus nagi* 琉球，台湾にも分布

Type C-Ⅲ

クチナシ *Gardenia jasminoides forma grandiflora* 琉球，台湾，中国にも分布.

ネズミモチ *Ligustrun japonicum* 琉球，朝鮮にも分布.

ヒイラギ *Osmanthus ilicifolius* 台湾にも分布.

マンリョウ *Ardisia Crenata* 朝鮮，台湾，中国，東南アジアにも分布.

カラタチバナ *Ardisia Crispa* 琉球，台湾，中国にも分布.

アセビ *Pieris japonica* 日本特産.

カクレミノ *Dendropana trifidus* 琉球にも分布.

ナワシログミ *Elaeagnus pungens* 日本特産.

サカキ *Cleyera japonica* 台湾，済州島にも分布.

モッコク *Ternstroemio gymnanthera* マライシア，琉球，台湾，中国にも分布.

ムクロジ *Sapindus Mukurossi* ヒマラヤまで分布.

タラヨウ *Ilex latifolia* 中国にも分布.

クロガネモチ *Ilex rotunda* 台湾，朝鮮，中国にも分布.

ヤマハゼ *Rhus sylvestris* 台湾，朝鮮，中国にも分布.

カナメモチ *Photinia glabra* 日本特産.

カゴノキ *Actinodaphne lancifolia* 台湾，朝鮮，南部にも分布.

クスノキ *Cinnamomum Camphora* 台湾，中国にも分布.

シロモミ *Parabenzoin trilobum* 中国にも分布.

ナンテン *Nandina domestica* 中国中部，印度にも分布.

アキニレ *Ulmus parvifolia* 朝鮮，台湾，中国にも分布.

ヤマモモ *Myrica rubra* 琉球，台湾，中国，朝鮮南部にも分布.

メダケ *Pleioblastus simonii* 日本特産.

イヌマキ *Podocarpus macrophyllus* 琉球にも分布.

Type C-Ⅳ

ツルグミ *Elaeagnus glabra* 台湾，朝鮮南部にも分布.

ゴンズイ *Euscaphis japonica* 台湾，朝鮮，中国にも分布.

モチノキ *Ilex integra* 小笠原，台湾，朝鮮にも分布.

ソヨゴ *Ilex pedunculosa* 台湾，中国にも分布．

ユズリハ *Daphniphyllum macropodum* 朝鮮南部にも分布．

ヤマザクラ *Prunus jamasakura*

シャリンバイ *Raphiolepis umbellata* 朝鮮南部にも分布．

トベラ *Pittosporum Tobira* 琉球，中国の海岸沿にも分布．

ヤブニッケイ *Cinnamomum japonica* 中国にも分布．

ダンコウバイ *Lindera obtusiloba* 朝鮮，中国にも分布．

シロダモ *Neolitsea sericea* 朝鮮南部，台湾，中国にも分布．

シキミ *Ilicium anisatum* 朝鮮南部，台湾，中国にも分布．

ビナンカズラ *Kadsura japonica* 朝鮮南部，台湾，中国にも分布．

ムベ *Stauntonia hexaphylla* 琉球，朝鮮南部にも分布．

ムクエノキ *Aphananthe aspera* 朝鮮，中国にも分布．

アカガシ *Quercus acuta* 朝鮮南部，台湾，中国にも分布．

アラカシ *Quercus glauca* 琉球，台湾，朝鮮南部，中国にも分布．

シラカシ *Quercus myrsinaefolia* 済州島にも分布．

ツクバネガシ *Quercus paucidentata* 日本特産．

シイ *Castanopsis cuspidata* var. *Sieboldii* 琉球，済州島にも分布．

Type D

ヤチダモ *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* 日本特産．

オオバボダイジュ *Tilia Maximowicziana*

ドロノキ *Populus Maximowiczii* カムチャッカ，カラフト，アムール，ウスリー，中国，朝鮮に分布．

Type E-1

スイカズラ *Lonicera japonica* 朝鮮，満州，中国にも分布．

ニワトコ *Sambucus Sieboldiana*

ヤブデマリ *Viburnum plicatum* var. *Tomentosum* 日本特産．

ゴマキ *Viburnum Sieboldi* 日本特産．

クコ *Lycium chinense* 琉球，台湾，朝鮮，中国にも分布．

テイカカズラ *Trachelospermum asiaticum* 朝鮮にも分布．

イボタノキ *Ligustrum obtusifolium* 朝鮮にも分布．

ミツバツツジ *Rhododendron dilatatum* (*R. wadanum, reticulatum*) を含む．

ヤマボウシ *Cornus kousa* 台湾，朝鮮にも分布．

ツバキ *Camellia japonica* 台湾，朝鮮南部，中国にも分布．

ヒサカキ *Eurya japonica* 台湾，朝鮮南部にも分布．

ナツツバキ *Stewartia pseudo-camellia* 日本特産．

ウリカエデ *Acer crataegifolium* 日本特産．

メグスリノキ *Acer nikoense* 日本特産．

ウリハダカエデ *Acer rufinerve* 日本特産．

ツゲ *Buxus microphylla* var. *gaponica*

アカメガシワ *Mallotus japonicus* 台湾，朝鮮，中国にも分布．

イヌザンショウ *Fagara mantchurica* 朝鮮，中国にも分布

カラスザンショウ *Zanthoxylum ailathoides* 琉球，台湾，朝鮮南部，中国にも分布．

ネムノキ *Albizzia Julibrissin* アジア南方にも分布．

キハギ *Lespedeza Buergeri* 中国にも分布．

フジ *Wisteria floribunda* 本州，四国，九州の特産．

ジデザクラ *Amelanchier asiatica* 朝鮮にも分布．

クサボケ *Chaenomeles japonica* 本州，四国，九州の特産．

シモツケ *Spiraea japonica* 朝鮮，中国，ヒマラヤにも分布．

バイカウツギ *Philadelphus satsumanus* 日本特産．

タブノキ *Machilus Thunbergii* 朝鮮南部，中国にも分布．

アブラチャン *Parabenzoin praecox* 本州，四国，九州の特産．

メギ *Berberis Thunbergii* 日本特産．

アケビ *Akebia quinata* 朝鮮，中国にも分布．

ニウゾ *Broussonetia kazinoki* 朝鮮，琉球，台湾，中国にも分布．

エノキ *Celtis sinensis* var. *japonica* 朝鮮，中国にも分布．

ケヤキ *Zelkova serrata* 朝鮮にも分布．

イヌブナ *Fagus japonica* 日本特産．

クヌギ *Quercus acutissima* 朝鮮，中国にも分布．

ヤシャブシ *Alnus firma* 日本特産．

イヌシデ *Carpinus Tschonoskii* 朝鮮，中国にも分布．

ヤダケ *Pseudosasa japonica* 朝鮮南部にも分布．

ヒノキ *Chamaecyparis obtusa* 日本特産．

スギ *Cryptomeria japonica* 日本特産．

モミ *Abies firma* 日本特産．

クロマツ *Pinus Thunbergii* 日本特産，近海地に生育．

ツガ *Tsuga sieboldi* 日本特産．

イヌガヤ *Cephalotaxus drupacea* 朝鮮にも分布．

カヤ *Torreya nucifera* 済州島にも分布．

Type E-Ⅱ

ウグイスカグラ *Lenicera gracilipes* 日本特産．

エゴノキ *Styrax japonica* 琉球，朝鮮，中国にも分布．

ヤブコウジ *Ardisia japonica* 琉球，台湾，中国，朝鮮にも分布．

リョウブ *Clethra barbinervis* 日本特産．

ハナイカダ *Helwingia japonica* 日本特産．

キヅタ *Hedera rhombea* 琉球，朝鮮南部にも分布．

キブシ *Stachyurus praecox* 日本特産.

ケンポナシ *Hovenia dulcis* 朝鮮，中国にも分布.

マサキ *Euonymus japonicus* 琉球，朝鮮，中国にも分布.

ヌルデ *Rhus japonica* 台湾，朝鮮，満州南部，中国にも分布.

サンショウ *Zanthoxylum piperitum* 朝鮮，中国にも分布.

ヤマブキ *Kerrir japonica* 中国にも分布.

ノイバラ *Rosa multiflora*

マンサク *Hamamelis japonica*

ウツギ *Deutzia Crenata*

クロモジ *Lindera umbellata* 中国にも分布.

サワグルミ *Pterocarya rhoifolia* 日本特産.

Type E-Ⅲ

ガマズミ *Viburunum dilatatum* 朝鮮，中国にも分布.

ムラサキシキブ *Callicarpa japonica* 琉球，台湾，朝鮮，満州，中国にも分布.

クサギ *Clerodendron trichotomum* 琉球，台湾，朝鮮，満州，中国にも分布.

ヤマツツジ *Rhododendron kaempferi* 日本特産.

アオキ *Aucuba japonica* 琉球，朝鮮南部にも分布.

アキグミ *Elaeagnus umbellata* 朝鮮にも分布.

ナツグミ *Elaeagnus multiflora* 日本特産.

ツタ *Parthenocissus tricuspidata* 中国，朝鮮にも分布.

マユミ *Euonymus sieboldianus* カラフト，千島南部，朝鮮，中国にも分布.

ズミ *Malus sieboldii* 朝鮮にも分布.

クリ *Castanea crenata* 日本特産.

ブナ *Fagus crenata* 日本特産.

アカシデ *Carpinus Laxiflora* 朝鮮にも分布.

アカマツ *Pinus deusiflora* 朝鮮にも分布.

Type F

カンボク *Viburunum sargenti* 樺太，千島南部，朝鮮，中国にも分布.

ハシドイ *Syringa reticulata* 千島南部，朝鮮にも分布.

ハウチワカエデ *Acer japonicum* 日本特産.

エゾユズリハ *Daphniphyllum macropodum* var. *humile* 千島南部.

ハマナス *Rosa rugosa* 日本海，太平洋岸沿，アジアの温，亜寒帯にも分布.

ヒメヤシャブシ *Alnus pendata*

シラカンバ *Betula platyphylla* var. *japonica* アジア北部にも分布.

ダケカンバ *Betula Ermani* 千島，カラフト，カムチャッカ，朝鮮にも分布.

ヤマナラシ *Populus sieboldi* 日本特産.

以上のように11型にそれぞれの樹種を属せしめたが，大部分のものは気温に関係した分布の状態[illegible]し

ているように思われる．そしていくつかが潮と関係して分布し，その他B型に属するものとして，地質に関係があるものやその他雨量等にも多少の関係を示すものがあるようである．尚今後の調査によって多少の変更をなすことがあると思われる．

主なる植物フローラおよび文献

奥山春季：植物採集ハンドブック(1953)．大井次三郎：日本植物誌(1953)．吉良竜夫：日本の森林帯—林業解説シリーズ(1949)．本多静六：森林植物帯論(1912)．館脇操：北方林の群落形態—林業解説シリーズ(1952)．河田杰：植物生態学講義(1932)．林弥栄：林業試験場研究報告No.48, No.55(1951, 1952)．関口武：日本に於ける「ケッペン」の気候区—社会地理第15号(1949)．中原孫吉：季節・気象(1953)．中井猛之進：大日本樹木誌巻Ⅰ．牧野富太郎・根本莞爾：日本植物総覧(1931)．山崎敬：日本列島の植物分布—自然科学と博物館(1959)．原寛・金井弘夫：日本種子植物分布図集第1集(1958)．和達清夫：日本の気候(1958)．飯島亮・染野邦夫・宮田久雄：日本における造園植物の天然布分—千葉大学園芸学部学術報告3号～8号．椙山清利：北海道樹木志料(1890)．山本岩亀・塚本角次郎：函館植物誌(1932)．横山春男：十勝植物誌(1950)．館脇操：大雪山の植物(1949)．同：石狩幌向原野植物目録(1931)．星野好博：美唄泥炭地に於ける植物目録—札林報151(1939)．杉本順一：夕張山之植物(膝)(1933)．村井三郎：青森県博物総目録「植物の部」．青森営林局：三陸植物誌(1935)．村井三郎：十和田，八甲田山の植物(1935)．青森営林局：岩手県基準植物目録(1935)．笹村祥二：岩手県沿岸帯植物誌(1950)．村井三郎：岩手県植物誌(1930)．村松七郎：秋田県植物誌(1932)．小林新：秋田県の植物—主として水平的分布について(1951)．青森営林局：宮城県植物目録(1935)．結城嘉美：山形県植物誌(1934)．佐藤正已：出羽国立公園候補地学術調査報告(1950)．飯柴永吉：奥羽地方植物目録(福島県の部)(1929～31)．奥山春季：福島県植物目録．飯柴永吉：東北地方植物目録(福島県の部)(1907)．矢野佐：茨城県猿島郡植物目録(1952)．林業試験場研究報告：鹿島灘沿岸地方に於ける2国有林の植物調査報告(1952)．酒井為太郎：茨城県樹木一覧(1901)．関本平八：栃木県植物総覧(1941)．同：続栃木県植物総覧(1951)．岩沢正作：赤城山植物目録(1916)．群馬県：尾瀬地方の生物と移植についての研究(1951)．奥山春季：尾瀬地方植物採集覚書(8)(1949)．東大演習林報告：秩父演習林及びその附近の木本植物予報(1931)．松村任三：秩父山の樹木「植物採集便覧」(1900)．千葉県生物学会：千葉県植物誌(1958)．与世里盛春：千葉県の植物(1932)．同：千葉県の植物分布概要—千葉博(1935)．本田正次：松戸附近植物目録—千葉高園学報(1933)．東京府：武蔵野の植物(1937)．常谷幸雄：武州高尾山の植物—東京緑地計画調査彙報第七号(1936)．同：伊豆大島植物目録(1931～32～35)．神奈川博物調査会：神奈川県植物目録(1933)．中村正雄：新潟県天産誌(1925)．奥山春季：越後三山(八海山，中ノ岳，駒ケ岳)採集目録(1942)，大田弘：越中越後国境方面の植物目録(1948)．吉田純幹：奥能登植物目録(1938)．寺下友三郎：尾山越後植物目録(1950)．福井県：福井県植物目録(1933)．信濃教育会北佐久郡会：長野県北佐久郡，植物目録(1933)．松本市博物同好会：松本市及び近郊植物誌(1936)．岐阜薬専植物同好会：岐阜県植物目録(1936)．松本順一：静岡県植物研究の概要(1930)．橋本梧郎：静岡県小笠郡植物誌(1931)．鳥居喜一：東三河産植物目録(1945)．梅村甚太郎：鳳来寺山植物誌(1935)．伊藤武夫：三重県植物誌(上・下)(1932)．神宮司庁林苑課：神宮神域の植物生態調査(1932)．北村四郎：滋賀県の植物について，—近江博物誌1(1936)．小森太三郎：本県として分布上注目に値する二，三植物所在—近江博物誌1(1936)．田川基二，高橋誠二郎：比叡山植物目録(1931)．田代善太郎，堀勝：大阪府植物誌(1938)．博物学会：播磨植物目録(1935)．河野好博：淡路島の暖地性植物寒地性植物其の他(1932)．岡本勇治：大和植物誌(1937)．宇井縫蔵：紀州植物誌(1932)．女子師範学校：鳥取県産植物目録(1933)．生駒義博：稲葉山の植物(1942)．不明：隠岐中の島植物目録，吉野善介：備中植物誌(1929)．本田正次：厳島産植物目録(1930)．橋本岩雄：道後山の植物分布目録(1949)．岡国夫：貝島高等植物目録—貝島学術調査報告(1950)．永富三治：山口県植物分布目録(1930)．岡国夫：防長植物分布目録(1950)．阿部近：高越山植物案内(1946)．伊延敏行：徳島県樹木誌(1949)．香川県博物学会：香川県植物分類目録(1937)．八木繁一：愛姫県植物誌(1928)．上村登：土佐の植物．高知営林局：四国における植物の分布とその生態(1939)．九州植物同好会：肥前(三船山，黒髪山)植物目録．橋本保：佐賀県野生植

物目録(1955). 長崎県博物研究会：長崎県植物誌(1940). 中島一男：福岡県植物仮目録(1938). 上妻博之：熊本県内採集植物目録(1916). 前原勘次郎：南肥植物誌，日野巌，遠藤茂：宮崎県植物目録—宮崎高校学術報告No.9. 平田正一：宮崎県産植物目録補遺(1950). 内藤喬，梶原重盛：鹿児島県自生植物目録(1934). 山本義光：大分県植物誌(1953).

Summary

The author has presented in the preceding numbers (No. 3 ~ 8) the natural distribution-map with comments of 215 defferent kinds of garden trees and shrubs. Now he has been able to discover out of the said investigation 11 distribution types. They are here presented with comments, and together with the examples of trees belonging to respectire patterns.

編集委員

藤井健雄

野村健一

児玉義彦

福富久夫

綾野雄幸

この学術報告に関する問合せは下記あてに願います

千葉県松戸市戸定　千葉大学付属図書館園芸学部分館気付　学術報告編集委員会

All communication relating of this bulletin should be addressed to the Committee of Faculty Library in the Faculty of Horticulture, Chiba University.

The Technical Bulletin of Faculty of Horticulture, Chiba University. No. 9

千葉大学園芸学部学術報告　第9号

昭和36年12月25日　印刷　　昭和36年12月31日　発行

編集兼発行者　野村健一　　印刷所　大蔵省印刷局

千葉県松戸市戸定648
千葉大学園芸学部内

東京都新宿区市谷本村町15

発行所　千葉大学園芸学部

千葉県松戸市戸定648　電話松戸2127番

The Technical Bulletin of Faculty of Horticulture
Chiba University
No. 9 (1961)

CONTENTS

Fertilization and Development of the Rat Ovum after the Second Polar Body Formation. ..... I. ISHIBASHI (1)

The Comparative Test of the Single Phase Farm Motor and the Three Phase Farm Motor on the Same Rated Horse Power. ..... Y. KODAMA and S. MINEGISHI (59)

Some Considerations on the Bark Treatment to Fruit Tress by Methyldemeton (Metasystox). ..... K. NOMURA (67)

On Some Kinds of Free Amino Acid which were Involved in Pear and Apple's Flower. ..... M. OHNO, E. TAKAHASHI, J. NAKAI and Y. KAWANO (75)

Studies on the Effect of Poly-phosphate as a Preservative for Vitamin C. ..... Y. AYANO (83)

Studies on the Detection and Determination of β-Indol Acetic Acid in Plant Materials. ..... C. SHIBANUMA, H. ISHII and T. MASE (89)

Studies on the Digestion of Proteins. Part Ⅲ. on the Inhibitory Effect of Melamin on B. subtilis N. Protease. ..... S. SHINANO and G. TAMURA. (95)

Studies on the Inflnence of Poly-phosphate in Wine-making. ..... I. TAKANO and M. YABUKI. (103)

Color of Tomato Fruits. ..... H. TAKEBANA, N. OGURA and S. SHIMAMURA (111)

Studies on the Adsorption of Rhodamine-B by Suspension of the Yeast. ..... M. YABUKI (119)

The Natural Distribution of Garden Trees and Shrubs in Japan. Especially on the Patterns of Their Natural Distribution. Ⅵ ..... R. IIJIMA (127)